

SÉRIE A,
N° 2553

N° D'ORDRE
3425

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES

PAR

Maurice BLANC,

Assistant au Muséum National d'Histoire naturelle

1^{re} THÈSE : **Contribution à l'étude de l'ostéogénèse chez les Poissons Téléostéens.**

2^e THÈSE : **Propositions données par la Faculté.**

Soutenues le 4 Mai 1953, devant la Commission d'examen :

MM. M. PRENANT, *Président.*

G. PETIT }
R. M. MAY } *Examineurs.*

LONS-LE-SAUNIER
IMPRIMERIE MAURICE DECLUME

1953



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552428_0041

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Nom du Candidat : **BLANC**

Prénom : **Maurice André**

Date de soutenance : 4 Mai 1953

Numéro d'ordre : Série A, 2553. N° 3425

BLANC (Maurice).

Contribution à l'étude de l'ostéogénèse chez les Poissons Téléostéens. — Paris, Mémoires Muséum Nat. Hist. nat., Zoologie VII, 1953, in-8°, 146 p., 75 fig., 6 planches

Th. Sc. Nat. Paris, 1953, Série A, n° 2553, n° 3425.

BLANC (Maurice).

Contribution à l'étude de l'ostéogénèse chez les Poissons Téléostéens. — Paris, Mémoires Muséum Nat. Hist. nat., Zoologie VII, 1953, in-8°, 146 p., 75 fig., 6 planches.

Th. Sc. Nat. Paris, 1953, Série A, n° 2553, n° 3425.

BLANC (Maurice).

Contribution à l'étude de l'ostéogénèse chez les Poissons Téléostéens. — Paris, Mémoires Muséum Nat. Hist. nat., Zoologie VII, 1953, in-8°, 146 p., 75 fig., 6 planches

Th. Sc. Nat. Paris, 1953, Série A, n° 2553, n° 3425.

BLANC (Maurice).

Contribution à l'étude de l'ostéogénèse chez les Poissons Téléostéens. — Paris, Mémoires Muséum Nat. Hist. nat., Zoologie VII, 1953, in-8°, 146 p., 75 fig., 6 planches

Th. Sc. Nat. Paris, 1953, Série A, n° 2553, n° 3425.

SÉRIE A,
N° 2553

N° D'ORDRE
3425

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES

PAR

Maurice BLANC,

Assistant au Muséum National d'Histoire naturelle

1^{re} THÈSE : **Contribution à l'étude de l'ostéogénèse chez les Poissons Téléostéens.**

2^e THÈSE : **Propositions données par la Faculté.**

Soutenues le 4 Mai 1953, devant la Commission d'examen :

MM. M. PRENANT, *Président.*

G. PETIT }
R. M. MAY } *Examineurs.*

LONS-LE-SAUNIER
IMPRIMERIE MAURICE DECLUME

1953



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen..... M. A. CHATELET.

PROFESSEURS

G. JULIA.....	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	M ^{lle} COUSIN.....	T Biologie anim. (P.C.B.).
A. DENJOY.....	T Théorie des Fonctions.	CHRÉTIEN.....	T Chimie minérale.
L. LUTAUD.....	T Géographie physique et géologie dynamique.	P. DRACH.....	Zoologie.
E. DARMOIS.....	T Enseignement de Physique.	KASTLER.....	Physique.
ROBERT LÉVY.....	T Physiologie comparée.	CHATELET.....	T Arithmétique et théorie des nombres.
FOCH.....	T Mécanique physique et expérimentale.	EPHRUSSI.....	T Génétique.
PAUTHENIER.....	T Electrotechnique générale.	WURMSER.....	T Biologie physico-chimique.
DE BROGLIE.....	T Théories physiques.	BAUER.....	T Chimie physique.
JOB.....	T Chimie générale.	RIVIÈRE.....	Géologie (P.C.B.).
PRENANT.....	T Anatomie et Histologie comparées.	GAUTHERET.....	T Biologie végét. (P.C.B.).
COMBES.....	T Physiologie végétale.	LUCAS.....	T Physique.
GARNIER.....	T Géométrie supérieure.	A. THOMAS.....	T Evolution des êtres organisés.
PÉRÈS.....	T Mécanique des fluides et applications.	ARNULF.....	Optique appliquée.
LAUGIER.....	T Physiologie générale.	MAX MORAND.....	Physique.
TOUSSAINT.....	T Technique Aéronautique.	SOLEILLET.....	Physique.
M. CURIE.....	T Physique (P.C.B.).	FORTIER.....	T Mécanique expérimentale des fluides.
G. RIBAUD.....	T Hautes températures.	DANJON.....	T Astronomie.
CHAZY.....	T Mécanique analytique et Mécanique céleste.	FROMAGEOT.....	T Chimie biologique.
CROZE.....	T Physique théorique et Physique céleste.	LAPORTE.....	T Physique générale et Radio-activité.
DUPONT.....	T Théories chimiques.	JANET.....	T Mathématiques générales.
VALIRON.....	T Calcul différentiel et Calcul intégral.	PETIT.....	T Biologie maritime.
BARRABÉ.....	T Géologie structurale et géologie appliquée.	QUENEY.....	T Météorologie et dynamique atmosphérique.
G. DARMOIS.....	T Calcul des probabilités et Physique mathématique.	GALLIEN.....	T Biologie anim. (P.C.B.).
Jacques BOURCART	T Géographie physique et Géologie dynamique.	EICHHORN.....	Biologie végét. (P.C.B.).
AUBET.....	T Chimie biologique.	DE CUGNAC.....	Biologie végét. (P.C.B.).
M ^{me} JOLIO-CURIE.	T Physique générale et Radioactivité.	M ^{lle} CAUCHOIS.....	T Chimie-Physique.
PLANTEFOL.....	T Botanique.	THELLIER.....	Physique du Globe.
CABANNES.....	T Recherches physiques.	AUDUBERT.....	Electrochimie
GRASSÉ.....	T Evolution des êtres organisés.	L'HÉRITIER.....	Génétique
PRÉVOST.....	T Chimie organique.	GRIVET.....	T Radio Electricité.
BOULIGAND.....	T Application de l'Analyse à la Géométrie.	PONCIN.....	Mécanique des fluides.
CHAUDRON.....	T Chimie appliquée.	THIRY.....	T Mécanique appliquée.
WYART.....	T Minéralogie.	DUBREIL.....	Mathématiques générales.
TESSIER.....	T Zoologie.	QUELET.....	Chimie (P.C.B.).
MANGENOT.....	T Biologie végétale.	CAGNIARD.....	Géophysique appliquée.
P. AUGER.....	T Physique quantique et relativité.	CHAMPETIER.....	Chimie appliquée.
MONNIER.....	Physiologie générale.	CUVILLIER.....	Géologie structurale et Géologie appliquée.
PIVETEAU.....	T Géologie.	JUNG.....	T Pétrographie.
ROCARD.....	T Physique.	TRILLAT.....	Physique (P.C.B.).
H. CARTAN.....	T Mathématiques (E. N. Supérieure).	WIEGMANN.....	Chimie (P.C.B.).
SCHAEFFER.....	T Physiologie des fonctions.	LICHNEROWICZ.....	T Mathématiques générales.
LAFFITTE.....	T Chimie générale.	JACQUINOT.....	T Physique (P.C.B.).
FAVARD.....	T Mécanique générale.	VASSY.....	Physique de l'Atmosphère.
COULOMB.....	T Physique du globe.	DESTOUCHES.....	Théories physiques.
		M. PRUVOST.....	T Géologie.
		AMIEL.....	Chimie (P.C.B.).
		HOCART.....	Minéralogie.
		MACHEBOEUF.....	Microbiologie.
		J.-P. MATHIEU ..	Physique (P.C.B.).
		COUTEAUX.....	Biologie animale (P.C.B.)
		MAY.....	Biologie animale (P.C.B.)
		CHOQUET.....	Calcul différentiel.
		FELDMANN.....	Biologie (P.C.B.).
		GUINIER.....	Physique (P.C.B.).
		JOST.....	Biologie (P.C.B.).

Secrétaire..... CH. MONIER.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'OSTÉOGÉNÈSE CHEZ LES POISSONS TÉLÉOSTÉENS,

par Maurice BLANC.

SOMMAIRE.

CHAPITRE I.

Généralités.

INTRODUCTION.

Importance des tissus squelettiques et insuffisance de nos connaissances sur ce sujet.
But du travail.

MATÉRIEL.

Matériel utilisé : arcs branchiaux, rayons de nageoires, autres pièces squelettiques.
Tableau récapitulatif des espèces étudiées.

TECHNIQUES.

CHAPITRE II.

Principales différences avec les Vertébrés supérieurs.

Faible minéralisation — Prédominance de l'ossification dans tissu fibreux et rareté de l'ossification endochondrale — Grande variété de tissus squelettiques — Pas de système de Havers — Nombreuses nuances dans rapports entre os et cartilage et peut-être même métaplasie chondro-osseuse dans certains cas — Structure squelettique différente d'organes de soutien homologues — Croissance osseuse durant toute la vie — Blocage en hiver — Grandes possibilités de réparation — Rôle inconnu des glandes endocrines (thyroïde aberrante — parathyroïdes inconnues) etc...

CHAPITRE III.

Rapports entre le cartilage et l'os. Quelques exemples d'ossification chez les Téléostéens.

GÉNÉRALITÉS : (os de membrane et os de cartilage — métaplasie et néoplasie — cartilage calcifié — etc...).

1^{er} MODE D'OSSIFICATION : os de membrane.

2^e MODE D'OSSIFICATION : ossification parachondrale.

3^e MODE D'OSSIFICATION : ossification périchondrale.

4^e MODE D'OSSIFICATION : passage vers une ossification endochondrale.
Considérations sur l'évolution générale des arcs branchiaux.

5^e MODE D'OSSIFICATION : ossification endochondrale.

POSSIBILITÉ D'UNE MÉTAPLASIE CHONDRO-OSSEUSE : Cas du « tissu mixte ».

CHAPITRE IV.

Le tissu ostéoïde.

A. PRINCIPALES VARIÉTÉS DE TISSUS SQUELETTIQUES CALCIFIÉS CHEZ LES POISSONS (pour mémoire).

Tissu osseux vrai — Tissu ostéoïde — Ivoire (ou dentine) — Tissu osseux à cellules et à canalicules des Plectognathes — Isopédine, cosmine, ganoïne — Tissu mixte — etc...

B. ETUDE DÉTAILLÉE ET INTERPRÉTATION DU TISSU OSTÉOÏDE DES TÉLÉOSTÉENS.

1) Généralités.

2) Recherches sur les arcs branchiaux.

3) Recherches sur les rayons des nageoires.

4) Conclusions sur le tissu ostéoïde.

Complément au chapitre IV : Etude du mode de croissance des lépidotriches articulés.

Techniques d'examen.

Structure générale des lépidotriches articulés.

Croissance en longueur.

1) Nombre des articles — Croissance terminale.

2) Longueur des articles — Croissance basilaire.

Croissance en épaisseur.

Conclusion : accord complet avec l'histologie.

CHAPITRE V.

L'ostéogénèse réparatrice. Expérimentation sur les nageoires.

A. DESCRIPTION GÉNÉRALE DE LA RÉGÉNÉRATION DES RAYONS DE NAGEOIRES.

1) Techniques d'amputation.

a) Amputation terminale.

b) Amputation médiane.

2) Observations préliminaires relatives au matériel utilisable.

a) Choix de l'espèce.

b) Importance de l'âge.

c) Choix de la nageoire et du type de rayon à étudier.

d) Importance du niveau de la section et de la position des rayons.

- 3) Description morphologique de la régénération.
 - a) Cas des amputations terminales.
 - b) Cas des amputations médianes.

B. ETUDE HISTOLOGIQUE DE LA RÉGÉNÉRATION.

- 1) Matériel et techniques.
- 2) Observations personnelles.
 - a) Réparation de l'épiderme.
 - b) Organisation du tissu conjonctif.
 - c) Formation des rayons osseux.
 - d) Homologie avec les écailles.
 - e) Apparition des actinotriches.
- 3) Conclusion.

C. ETUDE HISTOCHIMIQUE DE LA RÉGÉNÉRATION.

- 1) Recherche histochemique du calcium.
 - a) Techniques.
 - b) Résultats topographiques.
 - c) Discussion sur les apports de calcium.
- 2) Recherche histochemique de la phosphatase alcaline des os.
 - a) Historique.
 - b) Techniques.
 - c) Résultats topographiques.
- 3) Tentative de recherche histochemique de l'anhydrase carbonique.
- 4) Conclusion.

CHAPITRE VI.

Influence du système nerveux sur l'ostéogénèse.

A. ACTION DU SYSTÈME NERVEUX RADIAIRE SUR LA RÉGÉNÉRATION DES LÉPIDOTRICHES.

B. TRANSPLANTATIONS D'ÉBAUCHES DE LA NAGEOIRE CAUDALE.

CHAPITRE VII.

Blocage de l'ossification en hiver chez les poissons Téléostéens.

- 1) GÉNÉRALITÉS.
- 2) EXISTENCE D'UN CYCLE ANNUEL.
- 3) ACTION DE LA TEMPÉRATURE.
 - a) Constatations.
 - b) Action expérimentale de la chaleur en hiver.
 - c) Généralisation du phénomène.
 - d) Action expérimentale du froid en été.
- 4) ACTION DE L'ÉCLAIREMENT.
 - a) Action expérimentale de la lumière en hiver.
 - b) Action expérimentale de l'obscurité en été.
- 5) CONCLUSION. RÔLE INTERMÉDIAIRE DES GLANDES ENDOCRINES.
Renvoi aux travaux de J. BUSER.

CHAPITRE VIII.

Etude détaillée des ostéoblastes.

1) HISTORIQUE ET GÉNÉRALITÉS.

Définition des ostéoblastes et des ostéocytes.

Origine mésodermique des ostéoblastes.

Rapports avec fibroblastes.

Rôle des ostéoblastes. . . . { Théorie cellulaire de l'ostéogénèse
Théorie humorale de l'ostéogénèse

2) MATÉRIEL UTILISÉ.

3) OBSERVATIONS PERSONNELLES.

a) Apparition des ostéoblastes.

b) Evolution des ostéoblastes. Différents aspects fonctionnels.

c) Existence de granulations calcaires dans les ostéoblastes.

d) Discussion.

4) CONCLUSION.

CHAPITRE IX.

Conclusions générales.

1) Rapports entre le cartilage et l'os.

2) Tissu ostéoïde.

3) Régénération osseuse.

4) Influence du système nerveux.

5) Blocage de l'ossification en hiver.

6) Ostéoblastes.

BIBLIOGRAPHIE.

LISTE DES TABLEAUX INCORPORÉS AU TEXTE.

LISTE DES FIGURES.

EXPLICATION DES PLANCHES.

TABLE DES MATIÈRES.

CHAPITRE I.

GÉNÉRALITÉS.

Introduction.

Il ne semble pas nécessaire de rappeler ici l'importance des tissus squelettiques, tissus qui, on le sait, sont éminemment caractéristiques de l'embranchement des Vertébrés et qui sont, de plus, les seuls tissus susceptibles de persister à l'état fossile.

Or, de nombreux points obscurs subsistent encore à propos de la formation de ces tissus squelettiques. Jusqu'ici, les recherches qui ont été faites sur l'ostéogénèse portent presque toujours sur des Mammifères (Rats, Cobayes, Hommes) du fait qu'elles sont le plus souvent l'œuvre de médecins. Il est bien évident que ces travaux, quoique très intéressants, ne suffisent pas pour donner, à eux seuls, une idée complète de ce qu'est l'ostéogénèse dans le règne animal. Il est nécessaire d'étudier également l'ostéogénèse dans les autres classes de Vertébrés, pour compléter nos connaissances sur ce point. Citons d'ailleurs à titre d'exemple les résultats que viennent d'obtenir BENOIT, CLAVERT et leurs collaborateurs, en travaillant sur les Oiseaux. C'est pourquoi j'ai pensé qu'il pourrait être utile d'étudier l'ostéogénèse chez des Vertébrés Inférieurs, tels que les Poissons, chez qui ces phénomènes, tout en étant plus simples, présentent cependant une plus grande variété que chez les Vertébrés plus élevés en organisation.

Le but de ce travail est donc d'apporter une contribution à l'étude générale de l'ostéogénèse, en essayant d'envisager successivement les principaux aspects de la question chez les Téléostéens, c'est-à-dire chez les Poissons à squelette osseux.

Mes recherches ont été poursuivies successivement au Laboratoire d'Anatomie et d'Histologie comparées de la Sorbonne, puis au Laboratoire d'Hydrobiologie du C.N.R.S. à Gif-sur-Yvette (S.-et-O.) et enfin au Laboratoire des Pêches et Productions Coloniales d'origine animale du Muséum National d'Histoire naturelle.

Certaines des questions traitées ici ont été amorcées par Monsieur le Professeur M. PRENANT qui a d'ailleurs publié quelques notes sur ce sujet (1936, 1937 et 1938) et qui a bien voulu accepter de diriger mon travail. Je suis heureux de lui exprimer ma profonde gratitude pour les directives qu'il m'a prodiguées en toutes circonstances et pour l'intérêt qu'il n'a cessé de porter à mes recherches ; je le prie de trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

J'exprime également à Monsieur le Docteur R. M. MAY, Professeur au P.C.B., tous mes remerciements pour ses précieux conseils et pour l'attention qu'il a constamment manifesté à mon égard.

Que Monsieur le Professeur G. PETIT qui a bien voulu examiner et juger mon travail croie également à ma plus profonde gratitude.

A Monsieur le Professeur Th. MONOD, qui m'a fait l'honneur de m'admettre comme Assistant dans son Laboratoire au Muséum, j'adresse mes plus vifs remerciements. Je lui suis redevable de l'accueil le plus cordial et des conseils les plus précieux. Qu'il trouve ici l'expression de ma très respectueuse reconnaissance.

J'adresse tous mes remerciements à Monsieur P. BUDKER, Sous-Directeur au Muséum, qui, au cours de conversations journalières, m'a fait amplement profiter de sa grande connaissance des Poissons et qui a toujours mis généreusement à ma disposition toutes les possibilités de travail dont il pouvait disposer.

Je tiens à remercier très vivement Messieurs les Professeurs L. BERTIN et M. FONTAINE qui m'ont souvent donné d'utiles conseils et m'ont encouragé dans la réalisation de mon travail.

Je n'aurais garde d'oublier de signaler combien le Centre National de la Recherche Scientifique m'a aidé à débiter en me faisant l'honneur de m'attribuer, à la demande de M. M. PRENANT, une bourse de recherches jusqu'à ce que je sois nommé Assistant au Muséum. Que M. le Professeur G. TEISSIER, qui était alors Directeur du Centre National de la Recherche Scientifique, trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance, ainsi que M. le Professeur E. FAURÉ-FRÉMIEU qui fût mon Parrain de recherches pendant mon passage dans cet organisme. A ce propos, je tiens à saluer ici la mémoire de M. A. PACAUD, Directeur du Centre d'Etudes Hydrobiologiques du C.N.R.S., et à qui je dois l'acquisition de mes premières connaissances en Hydrobiologie.

A mes camarades de Laboratoire et à tous ceux qui m'ont aidé, à un titre quelconque, dans la réalisation matérielle de ce travail, en particulier à M^{me} A. FAUCHEUR à qui je dois une grande partie de l'illustration, j'exprime mes plus sincères remerciements.

L'étude de l'ostéogénèse chez les Poissons Téléostéens étant un sujet très vaste, soulevant de nombreuses questions, il y avait intérêt à le traiter à différents points de vue et avec des moyens de recherches différents. C'est pourquoi, Madame Jacqueline BUSER, également élève de M. PRENANT, a bien voulu se charger d'étudier le même sujet, mais au point de vue biochimique et physiologique. M^{me} J. BUSER vient d'ailleurs de présenter devant la Faculté des Sciences de Paris (mai 1952) une thèse intitulée : « *Etude expérimentale du déterminisme de la régénération des nageoires chez les Poissons Téléostéens* ».

Mon travail, par contre, traite surtout des questions anatomiques, embryologiques, histologiques et histochimiques.

Dans ce domaine, le travail de base jusqu'à nos jours est constitué par la thèse de P. STEPHAN publiée à Marseille en 1900 et intitulée « *Recherches histologiques sur la structure du tissu osseux des Pois-*

sons ». On y trouve notamment une excellente mise au point sur des questions qui furent à l'ordre du jour à cette époque et qui n'ont guère été revues depuis malgré les moyens plus modernes dont nous disposons à l'heure actuelle. Il en reste d'ailleurs d'excellentes préparations qui sont encore visibles au Laboratoire d'Histologie de la Faculté de Médecine de Marseille où elles sont conservées.

Matériel.

Au cours de mes recherches, j'ai dû examiner différentes sortes d'os appartenant à de nombreuses espèces de Téléostéens à divers stades du développement, et même parfois à d'autres animaux (Batraciens, Rongeurs, etc...) afin d'établir des comparaisons. Parmi tous ces os, ceux qui m'ont servi le plus dans cette étude sont :

1° *Les arcs branchiaux*. Ce sont des pièces squelettiques de la catégorie des os dits « *de cartilage* » et qui appartiennent à l'*endosquelette*. Au nombre de cinq paires chez les Téléostéens, ils sont situés de chaque côté de la tête, entre chaque fente branchiale et en arrière de la dernière. Sur le bord convexe de chaque arc se trouvent insérées deux rangées de *rayons branchiaux* destinés à soutenir les filaments branchiaux. Sur le bord concave des mêmes arcs on peut voir une série de petites épines appelées *branchiospines*, plus ou moins développées suivant les espèces et destinées à empêcher la nourriture entrée par la bouche de ressortir par les fentes branchiales avec le courant d'eau qui a servi à l'oxygénation des branchies. Le tout est logé dans une *chambre branchiale*, laquelle est recouverte par un *opercule*, sorte de volet soutenu lui-même par une série d'os de membrane attachés à l'arc hyoïdien.

2° *Les rayons des nageoires*. Les nageoires des Poissons Téléostéens constituent un très bon matériel pour l'étude de l'ostéogénèse. En effet, la partie libre des nageoires paires et impaires de ces animaux est constituée par un nombre déterminé pour chaque espèce, et à peu près constant, de rayons osseux, sur lesquels est tendue une peau assez mince. Cette disposition présente des avantages de deux sortes sur les autres pièces osseuses :

a) Ce sont des organes transparents ou presque, donc faciles à examiner. On peut ainsi suivre facilement les divers stades morphologiques de la formation et de la croissance des rayons, et même de leur réparation après amputation expérimentale, sans avoir recours à des techniques compliquées et souvent sans avoir besoin de sacrifier les animaux en expérience.

b) Ce sont des organes faciles à atteindre pour l'expérimentation. Les rayons des nageoires, de par leur situation, se prêtent en effet bien mieux que n'importe quelle autre pièce squelettique à la réalisation de fractions expérimentales, d'amputations partielles, de greffes osseuses, etc... De plus, leur lésion n'entraîne pas de troubles graves dans l'or-

Tableau n°1
Récapitulation des espèces étudiées

Ordres	Familles	Genres et espèces	Noms communs
Clupéiformes	Clupéidés	<i>Ethmalosa fimbriata</i> (Bowd.)	Ethmalose
	Salmonidés	<i>Salmo fario</i> L. Gibb. <i>Salmo irideus</i> Gibb. <i>Salmo salar</i> L.	Truite ordinaire Truite arc-en-ciel Saumon atlantique
	Esocidés	<i>Esox lucius</i> L.	Brochet
Cypriniformes	Characinidés	<i>Alentem leuciscus</i> Gunt.	Tinéni
	Cyprinidés	<i>Carassius auratus</i> (L.) <i>Gobio gobio</i> (L.) <i>Gardonus rutilus</i> (L.) <i>Phoxinus phoxinus</i> (L.) <i>Idus orfus</i> (L.) <i>Rhodeus amarus</i> (L.) <i>Tinca tinca</i> (L.) <i>Cyprinus carpio</i> L.	Poisson rouge Goujon Gardon Vairon Orfe Bouvière Tanche Carpe
		<i>Cobitis barbatula</i> L.	Loche franche
	Siluridés (1)	<i>Ameiurus nebulosus</i> (Les.)	Poisson-Chat
	Anguillidés	<i>Anguilla anguilla</i> (L.)	Anguille
Anguilliformes	Congridés	<i>Conger conger</i> (L.)	Congre
Gastérostéiformes	Gastérostéidés	<i>Gasterosteus aculeatus</i> L. <i>Pygosteus pungitius</i> (L.) <i>Spinachia spinachia</i> (L.)	Epinoche Epinochette Epinoche de mer
Syngnathiformes	Syngnathinés	<i>Syngnathus acus</i> L. <i>Nerophis lumbriciformis</i> (Will.) <i>Hippocampus guttulatus</i> C.	Syngnathe Nerophis Hippocampe

Cyprinodontiformes	Goodéidés	Goodea atripinnis Jord.	Goodéa
	Poeciliidés	Gambusia affinis (Ed.Cd.) Lebistes reticulatus (Peters)	Gambusia Guppy
Perciformes	Serranidés	Serranus scriba (L.)	Serran
	Centrarchidés	Eupomotis gibbosus L.	Perche-Soleil
	Percidés	Perca fluviatilis L.	Perche
	Pomacentridés	Helastates chromis L.	Castagnole
	Labridés	Labrus bergyllta Asc. Crenilabrus melops (L.) Crenilabrus ocellatus (Forsk.) Crenilabrus rostratus (El.) Coris julis (L.)	Grande Vieille Crenilabre commun Crenilabre ocellé Sublet Girelle
	Blenniidés	Blennius pholis L.	Blennie
	Osphronémidés	Macropodus opercularis (L.)	Macropode
	Gobiidés	Gobius minutus L. Gm. Gobius paganelius L.	Gobie
	Cottidés	Cottus bubalis Euph. Cottus Gobio L.	Chabot de mer Chabot de rivière
	Gobiésocidés	Lepadogaster gouanii Lac. Lepadogaster bimaculatus (Pen.)	Barbier

(1) Cette famille a en réalité été démembrée et le Poisson-Chat fait maintenant partie de la famille des "Aéuridés" (L.S. BEG - 1947); j'ai cependant conservé à dessein le terme de Siluridés qui est encore utilisé par la plupart des auteurs.

ganisme des individus en expérience, contrairement à ce qui se passe lorsqu'il s'agit d'os profonds. Enfin les hémorragies ne sont jamais bien importantes à cet endroit.

Ces rayons osseux sont des os *d'origine dermique* et font partie de l'*exosquelette* (RYDER 1885). Ils ont été appelés « *lépidotriches* » par GOODRICH (1904). Comme c'est presque toujours le cas pour les pièces exosquelettiques, les lépidotriches sont des « *os de membrane* », c'est-à-dire que ce sont des os formés par ossification du mésenchyme ou du conjonctif ; ils ne sont jamais précédés d'une ébauche cartilagineuse.

On distingue d'une manière classique, deux types de rayons de nageoires chez les Téléostéens :

a) *les rayons durs* ou *épineux*, qui sont formés d'une seule pièce continue et rigide.

b) *les rayons mous* ou *articulés*, qui sont formés par la juxtaposition d'un certain nombre de segments articulés les uns au bout des autres ; cette disposition donne évidemment une grande souplesse à la nageoire.

Ce caractère servait autrefois à partager les Téléostéens en deux groupes : les *Acanthoptérygiens* ou Téléostéens à nageoires épineuses, et les *Malacoptérygiens* ou Téléostéens à nageoires molles. Mais on s'est aperçu du manque de valeur de cette distinction et ce mode de classification a été à peu près complètement abandonné.

3° En plus des arcs branchiaux et des rayons des nageoires, il m'est arrivé d'examiner d'autres parties du squelette, telles que les os de la voûte du crâne, les os de l'opercule, ceux de la mâchoire inférieure, différentes parties des vertèbres, etc... mais ces os ne m'ayant servi qu'accessoirement je les décrirai simplement de façon rapide lorsque j'aurai l'occasion d'en parler au cours des chapitres ultérieurs.

Les différentes espèces de Poissons appartenant au groupe des Téléostéens, examinés dans ce travail étant au nombre de quarante-quatre, il m'a paru utile de donner ici un tableau récapitulatif avec la terminologie et la place exacte dans la classification de chacune d'entre elles, afin que l'on puisse s'y reporter en cas de besoin (voir tableau n° 1). Dans ce tableau, le nom d'auteur est mis entre parenthèses lorsque l'appellation générique actuelle du poisson n'est plus celle que lui avait donnée cet auteur.

Les espèces d'eau douce autochtones m'ont été fournies par le Laboratoire d'Hydrobiologie de Gif-sur-Yvette (S.-et-O.) et par la Station d'Hydrobiologie Expérimentale de Suresnes-Longchamp, tandis que les espèces d'eau douce exotiques proviennent de l'Aquarium du Musée de la France d'Outre-Mer et de l'élevage du Laboratoire des Pêches Coloniales du Muséum. Quant aux espèces marines, je les ai obtenues soit au cours d'un séjour à la Station Biologique de Roscoff (Finistère), soit au cours de plusieurs séjours successifs à la Station Zoologique de Villefranche-sur-Mer (Alpes-Maritimes).

Techniques.

Les techniques que j'ai utilisées au cours de ce travail sont surtout des techniques d'histologie assez courantes. Je me contenterai donc de les mentionner brièvement au cours de mon travail chaque fois que je le jugerai nécessaire et je me bornerai ici à résumer les différents procédés m'ayant permis de décalcifier les os de Poissons en vue de leur étude histologique.

Pour les alevins, et d'une façon générale pour toutes les pièces faiblement calcifiées (ex : régénérats) j'ai utilisé l'action du Bouin trichloracétique ou du Susa, liquides permettant de fixer et de décalcifier en même temps et qui n'obligent à aucun lavage supplémentaire, d'où un gain de temps très important.

Pour les pièces plus fortement calcifiées, j'ai dû, après fixation préalable au Bouin ordinaire ou au formol à 10 %, décalcifier soit par le procédé classique à l'acide trichloracétique à 5 %, soit par une solution d'acide nitrique à 3 ou 5 % dans l'alcool à 95°.

Personnellement, je préfère de beaucoup utiliser le procédé à l'acide nitrique. En effet la décalcification par l'acide trichloracétique a l'inconvénient d'être très lente ; de plus elle nécessite un lavage à l'eau courante qui, après le traitement par l'acide, risque de provoquer un gonflement des tissus collagènes ; enfin un séjour prolongé dans l'acide trichloracétique peut diminuer la colorabilité ultérieure des noyaux. Par contre, la décalcification par l'acide nitrique en solution alcoolique est rapide et le lavage qui suit l'action de l'acide se fait, non pas à l'eau, mais directement à l'alcool à 95° (que l'on change plusieurs fois), ce qui non seulement économise du temps mais évite également tout risque de gonflement du collagène. Les tissus ne sont jamais altérés par ce procédé.

J'ai également pratiqué quelques essais de décalcification par action du citrate d'ammonium, mais uniquement dans des cas spéciaux (recherche histochimique des phosphatases par exemple).

En ce qui concerne les techniques de recherches histochimiques, j'ai jugé bon de les commenter assez longuement et, pour cette raison, je renvoie le lecteur aux différents chapitres où il est question d'histochimie (notamment au chapitre V, pour le calcium et la phosphatase de l'os).

Au point de vue expérimental, les techniques d'amputations et de greffes sont exposées en détail au début du chapitre V et au cours du chapitre VI, dont il est difficile de les séparer.

CHAPITRE II.

PRINCIPALES DIFFÉRENCES AVEC LES VERTÉBRÉS SUPÉRIEURS.

J'ai cru bon d'indiquer dès le début de cette étude, les principales différences existant entre les phénomènes d'ossification chez les Téléostéens et les phénomènes d'ossification des Vertébrés supérieurs qui sont bien mieux connus. Aussi ce chapitre, quoique très bref, donnera déjà aux lecteurs une idée générale de ce qu'est l'ostéogénèse chez les Poissons Téléostéens, ostéogénèse dont les caractéristiques essentielles sont, à mon avis, les suivantes :

1° On trouve chez ces animaux, une gamme particulièrement complète de rapports entre le cartilage et l'os, et on peut observer très aisément toute une série de nuances dans les relations entre les deux tissus, ainsi que nous le verrons au cours du chapitre suivant. Il existe même des cas où il y a probablement métaplasie chondro-osseuse, ce qui n'est guère observable dans les autres groupes de Vertébrés, en raison de la complication des phénomènes.

2° Il existe chez les Poissons une très grande variété de tissus squelettiques calcifiés, certains de ces tissus allant même jusqu'à être complètement dépourvus de cellule (cas du tissu ostéoïde de KOLLIKER, étudié au chapitre IV).

3° Si l'on observe les différents modes d'ostéogénèse, on est frappé, ainsi que l'a été P. STEPHAN (1900) par la prédominance générale de l'ossification dans le tissu fibreux, processus extrêmement fréquent chez les Poissons, et par la rareté de l'ossification endochondrale. On est surpris également par le peu d'importance que prennent les phénomènes circulatoires dans tous ces processus, en comparaison du rôle important joué par les vaisseaux sanguins au cours de l'ostéogénèse chez les Vertébrés supérieurs.

4° On ne rencontre pratiquement pas de système de Havers dans les os des Poissons, alors que cette disposition est si caractéristique des os d'Oiseaux et de Mammifères. Il en existe bien, paraît-il, dans quelques cas tout à fait rares (*Amia*, *Lepidosteus*) et où les systèmes de Havers sont d'ailleurs isolés les uns des autres, mais il ne m'a pas été donné de les observer.

5° Bien souvent des organes de soutien, pourtant homologues, n'ont pas la même structure squelettique chez les différentes espèces du groupe. Le cas des arcs branchiaux que nous verrons au cours du chapitre suivant nous en fournit un bel exemple.

6° Chez les Poissons, la croissance est à peu près illimitée, à tel point qu'il n'est pas indispensable de se procurer des séries d'embryons ou d'alevins pour observer des os en construction ; on peut en effet trouver des phénomènes d'ostéogénèse à côté d'os déjà adultes, les phénomènes d'ossification se prolongeant pendant toute la durée de l'existence chez ces animaux.

7° Il y a, par contre, un arrêt des phénomènes de croissance et plus particulièrement des phénomènes d'ostéogénèse, pendant les périodes de froid. L'ossification chez les Poissons est donc un phénomène saisonnier. C'est cette alternance d'activité et d'arrêt de l'ostéogénèse qui donne à certaines pièces squelettiques une structure cyclique ou zonée bien connue (écailles, otolithes, etc...).

8° On ne sait encore que fort peu de choses sur le rôle des glandes endocrines chez les Téléostéens. La glande thyroïde par exemple, qui se présente à l'état diffus, non individualisée, est évidemment fort différente de la thyroïde des Vertébrés Tétrapodes et ne doit pas avoir exactement les mêmes fonctions. Quant aux glandes parathyroïdes, dont on sait le rôle important joué au cours de l'ostéogénèse chez les Vertébrés supérieurs, personne ne les a encore retrouvées chez les Téléostéens.

9° Le squelette des Poissons présente une plus faible minéralisation (davantage de substance organique par rapport à la substance minérale) que celui des Vertébrés supérieurs, d'où la consistance relativement molle des os. Ceci constitue d'ailleurs un avantage appréciable pour la réalisation des coupes destinées aux recherches histochimiques.

10° Enfin le squelette des Téléostéens est doué de possibilités de réparation beaucoup plus étendues que celui des Vertébrés supérieurs, ce qui rend plus facile l'expérimentation sur les tissus squelettiques.

Nous voyons donc déjà, par ce bref résumé, que chez les Téléostéens, l'ostéogénèse présente pas mal de particularités et que certains points méritent d'être étudiés en détail.

CHAPITRE III.

RAPPORTS ENTRE LE CARTILAGE ET L'OS.
QUELQUES EXEMPLES D'OSSIFICATION
CHEZ LES TÉLÉOSTÉENS.

Généralités.

Le phénomène de l'ossification est particulièrement intéressant à étudier chez les Poissons Téléostéens, car il y a chez ces animaux des rapports tout à fait variables suivant les os considérés, entre le cartilage et l'os. La graduation de ces rapports, comme le fait ressortir P. FLORENTIN (1935) dans un article de vulgarisation, ne se retrouve jamais aussi complètement dans les autres classes de Vertébrés.

On distingue généralement deux sortes d'os chez les Vertébrés : les os dits « *de membrane* » qui se forment directement à partir du tissu conjonctif ou du tissu mésenchymateux, et les os dits « *de cartilage* » qui sont précédés d'une ébauche cartilagineuse. Autrefois, on pensait que dans le cas des os dits « *de cartilage* », c'était l'ébauche cartilagineuse qui se transformait en tissu osseux ; c'était la théorie de la *métaplasie chondro-osseuse*. Mais grâce aux travaux de H. MULLER (1858) on s'est aperçu que l'ébauche cartilagineuse était en réalité détruite dans la phase qui précède l'ossification, d'où la naissance de la *théorie néoplasique* qui devait par la suite triompher de la théorie métaplasique.

Cependant, un certain nombre de cas, tel que le maxillaire inférieur, le bois des Cervidés, etc... ont fait l'objet de longues discussions ; les arcs branchiaux de certains Poissons osseux constituent un de ces cas particuliers, non complètement élucidés, et dont j'ai eu l'occasion de m'occuper dans mon diplôme d'études supérieures (1944).

Signalons aussi que certaines pièces squelettiques restent très longtemps cartilagineuses chez les Téléostéens (notamment chez les Salmonidés) et parfois persistent même ainsi toute la vie (ex : de nombreuses pièces squelettiques du crâne de *Gambusia affinis*). Il peut d'ailleurs dans ce cas y avoir calcification du cartilage âgé, mais de toute façon ce cartilage, même chargé de calcium, garde la valeur d'un cartilage et ne doit pas être confondu avec de l'os.

Nous allons au cours des pages qui suivent, étudier quelques exemples d'ossification chez les Téléostéens. Ces exemples vont nous permettre de montrer la diversité et la graduation des rapports entre

les tissus osseux et cartilagineux. En même temps, cette étude de la formation de quelques pièces osseuses nous permettra d'acquérir des connaissances qui nous seront utiles dans le chapitre suivant.

PREMIER MODE D'OSSIFICATION.

Le cas le plus simple est évidemment celui où l'on a affaire à un os de membrane, c'est-à-dire à un os qui apparaît en l'absence de tout cartilage. Cet os apparaît directement, soit dans le mésenchyme, soit dans le tissu conjonctif, ce deuxième cas étant le plus fréquent. Ce sont généralement des os assez superficiels, qui se forment soit dans le derme même, soit dans le tissu conjonctif voisin du derme. De plus, ils apparaissent presque toujours les premiers.

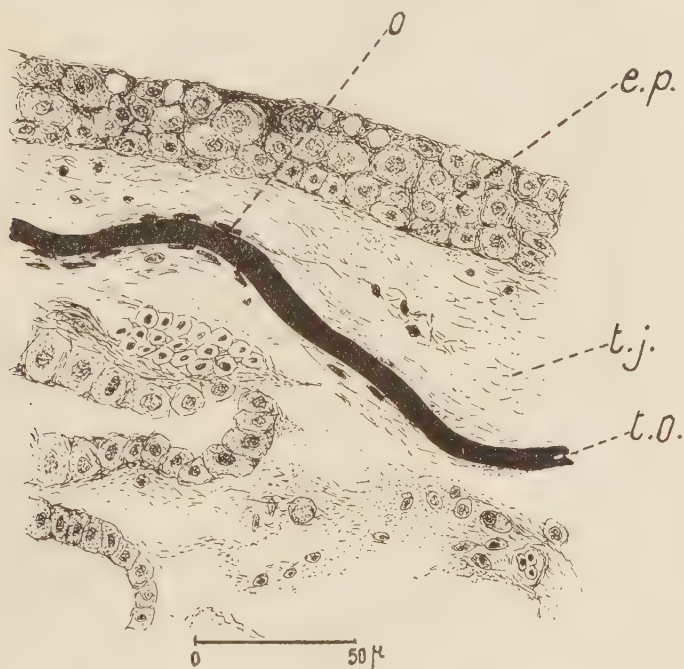


FIG. 1. — Formation d'un os de membrane. Voûte du crâne d'un alevin d'*Idus orfus* (L.) de 35 jours. Région centrale.

e.p. = épiderme ; o. = ostéoblastes ; t.j. = tissu conjonctif ; t.o. = tissu osseux.

Nous prendrons comme exemple de ce type d'ostéogénèse, le cas des os de la voûte du crâne (voir fig. 1 et 2) dont j'ai étudié la formation sur des coupes sérieées de Cyprinidés et de Poecilidés principalement. Ce sont des os qui se forment directement dans le tissu conjonctif situé à la partie supérieure du crâne, juste sous la peau. Dans cette région, le tissu conjonctif qui constitue la voûte du crâne chez

le jeune, est généralement riche en fibres collagènes orientées parallèlement aux téguments. Au début, les cellules conjonctives sont assez éloignées les unes des autres. Puis elles se rapprochent et se rangent le long des fibres conjonctives dans la zone où va se former l'os, mais dans l'exemple présent elles ne sont jamais très nombreuses. L'os apparaît alors, sous forme de minces plages de substance préosseuse qui se constituent le long des fibres directrices et qui s'élargissent



FIG. 2. — Formation d'un os de membrane. Voûte du crâne d'un alevin d'*Idus orfus* (L.) de 35 jours. Extrémité en cours de croissance.

e.p. = épiderme ; o. — ostéoblastes ; t.j. = tissu conjonctif ; t.o. = tissu osseux.

ensuite peu à peu tout en se calcifiant. Leur surface augmente et plusieurs plages osseuses voisines peuvent finir par se réunir de cette façon. Quant aux ostéoblastes, ils se trouvent peu à peu refoulés par l'étalement de l'os vers les endroits où se poursuit la croissance de celui-ci, c'est-à-dire sur les pourtours où ils sont à peu près localisés (voir fig. 2) : Aux autres endroits, on n'en voit plus que quelques-uns, de forme allongée, appliqués étroitement çà et là contre la substance osseuse (voir fig. 1). Ces os restent toujours assez minces et ne s'ac-

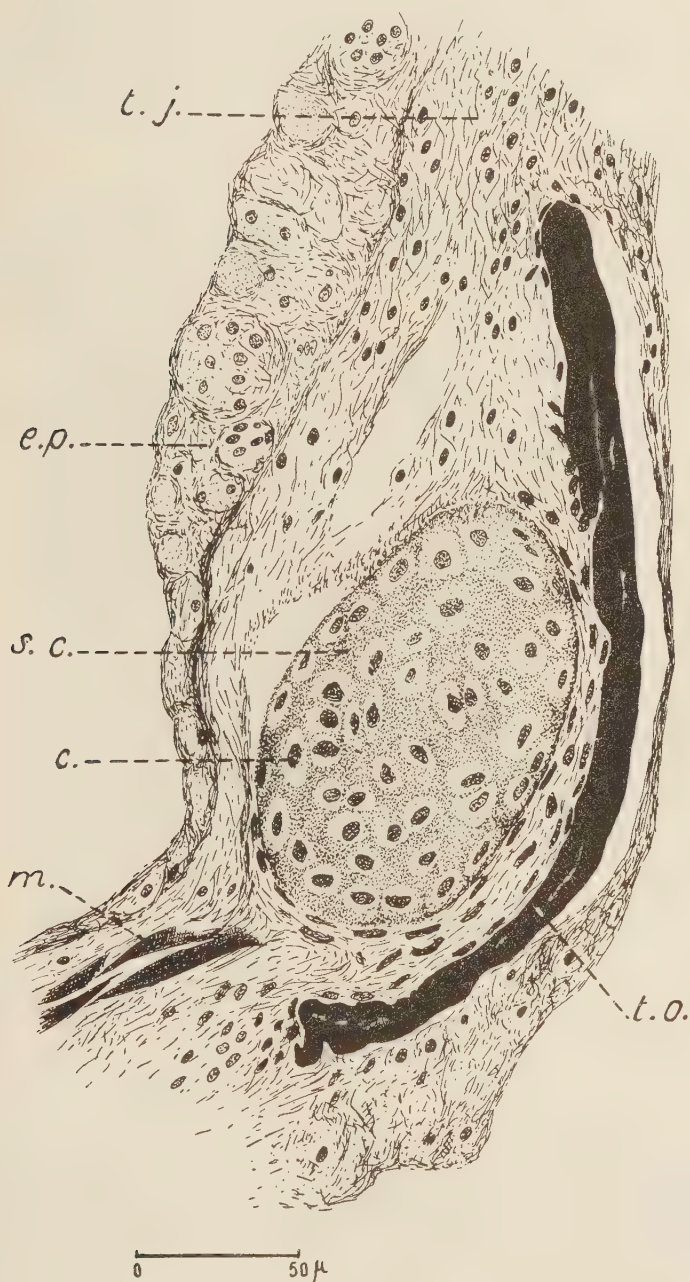


FIG. 3. — Mâchoire inférieure d'alevin de *Salmo salar* L. âgé de deux mois et demi.
Coupe transversale montrant un exemple d'ossification parachondrale.

c. = cellules cartilagineuses ou chondroblastes ; e.p. = épiderme ; m. = muscles striés ; s.c. = substance fondamentale du tissu cartilagineux ; t.j. = tissu conjonctif ; t.o. = tissu osseux.

croissent guère en épaisseur ; ils conservent un aspect plus ou moins lamellaire. Comme on le voit, les phénomènes circulatoires n'interviennent pratiquement pas, les modifications cellulaires ne sont pas très importantes et le rôle essentiel semble joué surtout par les fibres collagènes.



FIG. 4. — Mâchoire inférieure d'alevin de *Salmo salar* L. âgé de deux mois et demi. Coupe transversale montrant un exemple d'ossification parachondrale.

c. = cellules cartilagineuses ou chondroblastes ; c.p. = cellules du périchondre ; e.p. = épiderme ; m. = muscles striés ; o. = ostéoblastes ; s.c. = substance fondamentale du tissu cartilagineux ; t.j. = tissu conjonctif ; t.o. = tissu osseux.

Signalons pour mémoire que les os qui constituent les *rayons des nageoires* appartiennent au même type d'os que ceux de la voûte du crâne, mais que les modifications cellulaires y sont beaucoup plus

nettes à étudier. Nous n'insisterons pas davantage sur ces rayons pour l'instant, car nous aurons l'occasion d'en reparler très longuement dans la suite de ce travail.

DEUXIÈME MODE D'OSSIFICATION.

Il s'agit d'un type d'ossification assez fréquent chez les Poissons et également chez les Batraciens ; c'est le cas où l'os se forme directement dans le tissu conjonctif, comme au paragraphe précédent, mais cette fois au voisinage d'un cartilage. Ce cartilage n'a aucun



FIG. 5. — Mâchoire inférieure d'alevin de *Salmo irideus* Gibb. âgé de sept jours. Coupe transversale montrant un exemple d'ossification parachondrale.

c. = cellules cartilagineuses ou chondroblastes ; c.p. = cellules du périoste ; e.p. = épiderme ; o. = ostéoblastes ; s.c. = substance fondamentale du tissu cartilagineux ; t.j. = tissu conjonctif ; t.o. = tissu osseux.

rôle véritable dans la réalisation de l'os qui se construit à proximité, sauf peut-être en ce qui concerne la forme de celui-ci ; l'os semble

en effet épouser approximativement à distance les contours du bord de la pièce cartilagineuse.

Ce cas se rencontre dans certains os du crâne où les plaques osseuses ainsi formées viennent recouvrir et protéger des pièces cartilagineuses préexistantes. Nous le décrirons dans le cas des *os de la mâchoire inférieure* des Salmonidés (voir fig. 3, 4 et 5). Cette mâchoire inférieure est d'abord représentée par du cartilage tout à fait banal avec un périchondre formé de cellules dérivant des cellules du tissu conjonctif. Puis au voisinage de ce cartilage, sur un côté de celui-ci, on assiste, tout à fait comme dans le cas des os de la voûte du crâne dont j'ai parlé plus haut, à la formation d'une zone fibreuse, riche en cellules, où apparaît bientôt une mince bande osseuse. Celle-ci est toujours séparée du cartilage par une travée conjonctive quelquefois très minime, pouvant même être réduite à une couche de cellules, mais existant toujours. Cette bande osseuse s'écarte généralement un peu du cartilage en se développant, mais reste toujours dans les parages de celui-ci. Elle dépasse souvent alors en dimensions la pièce cartilagineuse auprès de laquelle elle s'est formée. Sur les bords de ce tissu osseux se voient de nombreux ostéoblastes et il y a souvent une grande ressemblance entre les ostéoblastes qui entourent l'os et les cellules conjonctives qui relient les deux pièces squelettiques considérées, ainsi d'ailleurs qu'avec les cellules du périchondre. Il y a indubitablement une parenté étroite entre les cellules conjonctives, les cellules du périchondre et les ostéoblastes. Ceux-ci sont d'ailleurs beaucoup plus nombreux sur le bord de l'os qui regarde la pièce cartilagineuse que sur le côté opposé.

Cet exemple montre donc un rapprochement très marqué du tissu osseux et du tissu cartilagineux mais sans que les deux tissus entrent en contact. C'est un exemple d'ossification *parachondrale*.

TROISIÈME MODE D'OSSIFICATION.

Ce troisième mode d'ossification est particulièrement bien visible dans les *arcs branchiaux* et c'est en étudiant le développement de ceux-ci que nous l'avons observé. Mes recherches concernant cette question ont porté sur les Salmonidés, les Poecilidés, les Siluridés, les Anguillidés, les Esocidés, les Cyprinidés, les Gastérostéidés, les Centrarchidés, les Osphronémidés et les Cottidés.

Les arcs branchiaux des jeunes Téléostéens sont d'abord uniquement cartilagineux. Chez les alevins très jeunes, par exemple chez *Esox lucius* de 8 mm de long, la substance fondamentale est à peu près inexistante et les chondroblastes se touchent. On a alors un cartilage spécial appelé « *cartilage à stroma capsulaire* » (voir fig. 6). C'est une variété de cartilage à très grosses cellules, très rapprochées les unes des autres, ne laissant entre elles qu'une substance fondamentale très peu abondante, réduite à peu près à un réseau de mailles polyédriques formant l'enveloppe des cellules. Ce tissu, mis en évi-

dence par RENAUT, n'existe guère que dans les arcs branchiaux des Téléostéens, ainsi que dans le squelette des Cyclostomes.

Un peu plus tard, par exemple chez un *Esox lucius* de 1,4 cm de long, les cellules cartilagineuses relativement plus petites, sont séparées par de la substance fondamentale bien visible cette fois. Le cartilage à stroma capsulaire a été transformé en cartilage hyalin par formation de la substance fondamentale. Il est intéressant de remarquer que ce cartilage à stroma capsulaire, qui justement existe en permanence chez les Cyclostomes, lesquels sont évidemment des Vertébrés primitifs et inférieurs par rapport aux Téléostéens puisque ce sont des Agnathes, semble d'autre part précéder le cartilage hyalin au cours du développement des arcs branchiaux des Téléostéens. Ces

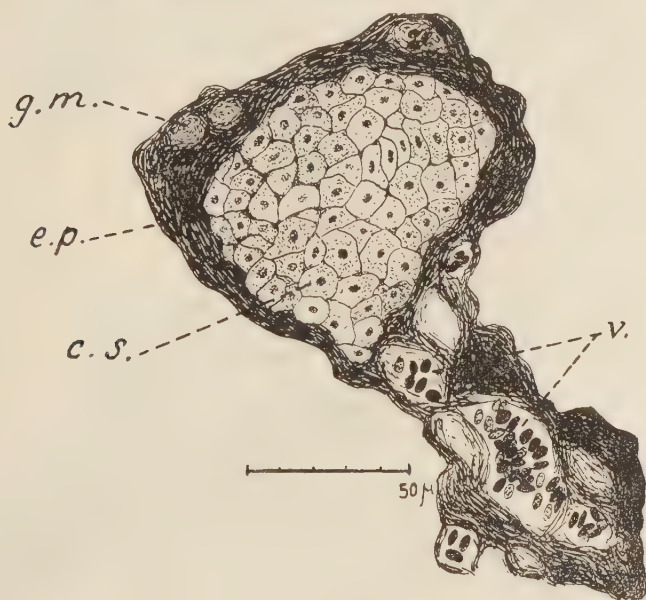


FIG. 6. — Arc branchial d'alevin d'*Esox lucius* L. de 14 mm de long.
Coupe transversale montrant le « cartilage à stroma capsulaire ».

c.s. = cartilage à stroma capsulaire ; e.p. = épiderme ; g.m. = glandes à mucus ; v = vaisseaux sanguins.

deux raisons sont-elles suffisantes pour permettre de dire que le cartilage hyalin est supérieur au cartilage à stroma capsulaire ? Il est difficile de se prononcer sur une telle question avec le peu que nous en savons encore.

A partir de ce stade, nous assistons à la formation d'un manchon autour du cartilage primordial (voir fig. 7 et 8). Ce manchon est constitué soit d'os, soit de substance ostéoïde (nous reviendrons en détail sur cette question dans le chapitre IV) et s'accroît par l'extérieur. Au point de vue physiologique, il est permis de penser que la forma-

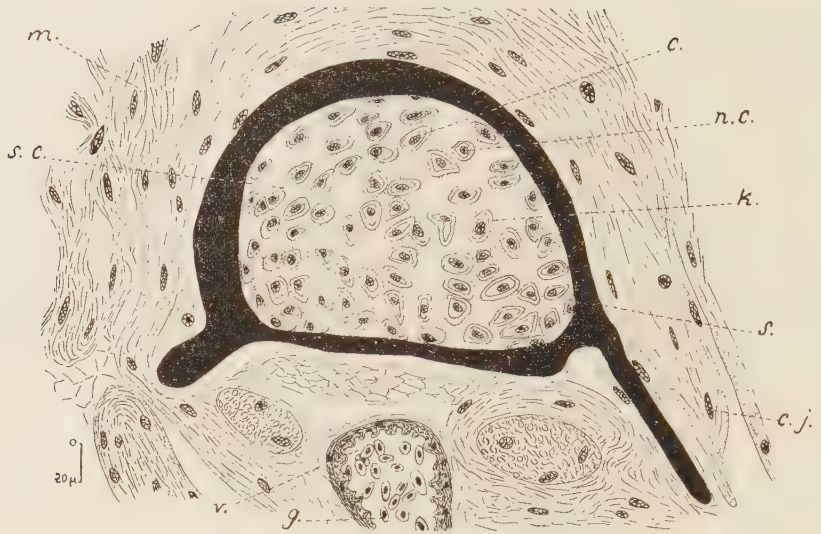


FIG. 7.

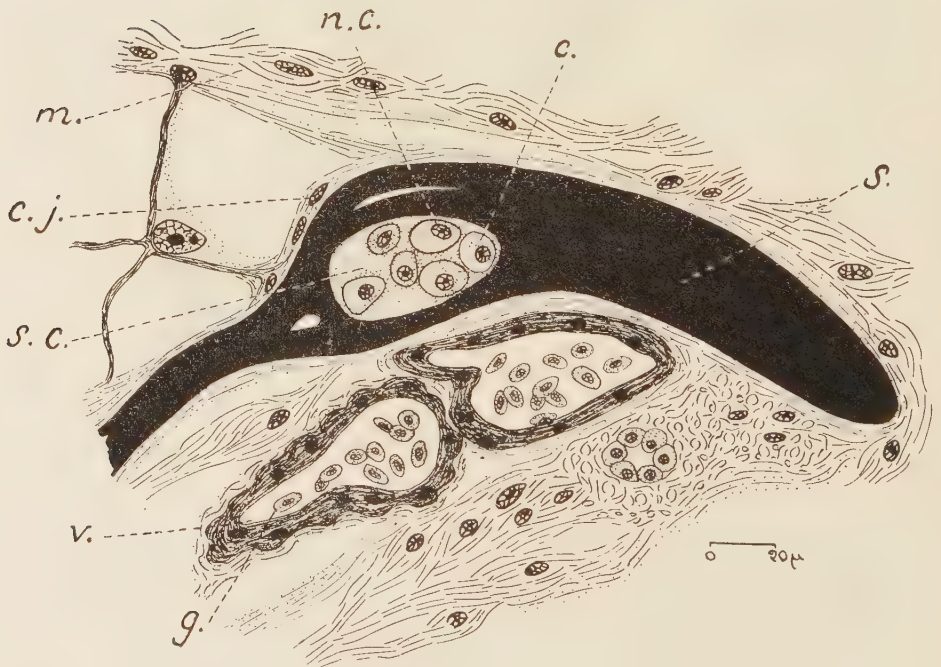


FIG. 8.

FIG. 7 et 8. — Arc branchial de *Cottus gobio* L. adulte. Coupes transversales à deux niveaux différents.

c. = cellules cartilagineuses ou chondroblastes ; c.j. = cellules conjonctives ; g. = globules sanguins ; k. = capsules des cellules cartilagineuses ; m. = muscles striés ; n.c. = noyaux des cellules cartilagineuses ; s. = substance ostéoïde ; s.c. = substance fondamentale du tissu cartilagineux ; v. = vaisseaux sanguins.

tion du manchon osseux ou ostéoïde est déterminée par la présence du nodule cartilagineux central qui conditionne et guide l'ossification dans cette région. C'est une ossification par apposition. L'os apparaît au contact même du cartilage préformé et repose directement sur lui. Ce type d'ossification est une ossification *périchondrale*. Le périchondre a cessé brusquement sa fonction chondrogène pour la remplacer par une fonction ostéogène.

L'apparition du tissu osseux ou du tissu ostéoïde se fait à un âge qui n'est pas le même pour toutes les espèces ; c'est ainsi que chez *Salmo salar* dont le développement est extrêmement lent, les arcs branchiaux de l'alevin de deux mois et demi sont encore purement cartilagineux, alors que chez un alevin de *Macropodus opercularis* de 6,5 mm de long, le revêtement ostéoïde apparaît déjà.



FIG. 9. — Arc branchial de *Gambusia affinis* (Bd. Gd.) adulte. Coupe transversale montrant l'axe cartilagineux central et le tissu ostéoïde périphérique formé par ossification périchondrale.

c. = cellules cartilagineuses ou chondroblastes ; g. = globules sanguins ; m. = muscles striés ; n.c. = noyaux des cellules cartilagineuses ; s. = substance ostéoïde ; s.c. = substance fondamentale du tissu cartilagineux ; v. = vaisseaux sanguins.

Les arcs branchiaux des Cottidés, des Gastérostéidés, des Poecilidés, etc... en restent à ce stade. Il n'y a pas de résorption, ni de remaniements du cartilage ou de l'os. Le cartilage persiste toute la vie et ne subit jamais l'érosion qui précède normalement une ossification endochondrale. Chez un *Gambusia affinis* adulte, par exemple, chaque arc branchial est formé de deux parties : une partie centrale formée par un îlot cartilagineux renfermant quelques chondroblastes

volumineux et de la substance fondamentale normale, et une partie périphérique fortement éosinophile, constituée par un anneau de tissu ostéoïde peu épais qui entoure complètement le cartilage central (voir fig. 9) et dont nous reparlerons dans le prochain chapitre. La réaction argentique de von Kossa montre que cet anneau qui entoure le cartilage est calcifié, car il apparaît en noir sous l'action du nitrate d'argent, tandis que le nodule cartilagineux central ne l'est pas.

Mais le développement des arcs branchiaux ne s'arrête pas là chez toutes les espèces. C'est ainsi que chez certains Cyprinidés, chez les Anguillidés, chez les Centrarchidés, etc... le développement des arcs branchiaux nous conduit à étudier un quatrième mode d'ossification.

QUATRIÈME MODE D'OSSIFICATION.

Dans les arcs branchiaux de certains Cyprinidés (voir fig. 10, 11 et 12), des Anguillidés (voir fig. 13), des Centrarchidés (voir fig. 14, 15, 16 et 17), etc... le cartilage central se creuse petit à petit et finit



FIG. 10.

FIG. 10, 11, 12. — Arc branchial de *Carassius auratus* (L.). Coupes transversales à trois stades différents. Disparition progressive du cartilage central.

c. = cellules cartilagineuses ou chondroblastes ; c.o. = cellules osseuses ; m.o. = moelle osseuse ; o. = ostéoblastes ; s.c. = substance fondamentale du tissu cartilagineux ; t.j. = tissu conjonctif ; t.o. = tissu osseux.



FIG. 11.

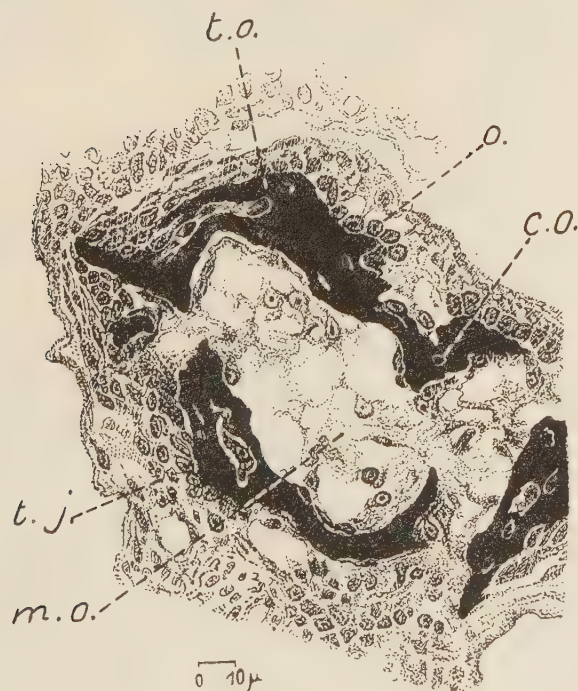


FIG. 12.

par se détruire en donnant naissance à une cavité médullaire. Chez *Carassius auratus* par exemple, ce phénomène de disparition du nodule cartilagineux se fait environ quarante à cinquante jours après l'éclosion (voir fig. 10, 11 et 12) et débute toujours par le milieu des pièces considérées pour s'étendre ensuite vers les extrémités. Signalons d'ailleurs que ce cartilage disparaît sans subir de changement préalable important. Dans la cavité médullaire ainsi formée se disposent généralement quelques plages de tissu osseux et nous avons finalement chez l'adulte un arc branchial dépourvu de cartilage et constitué par un os plus ou moins spongieux. Chez *Anguilla anguilla* par exemple, on a une virole osseuse périphérique, un peu fibreuse, entourant une

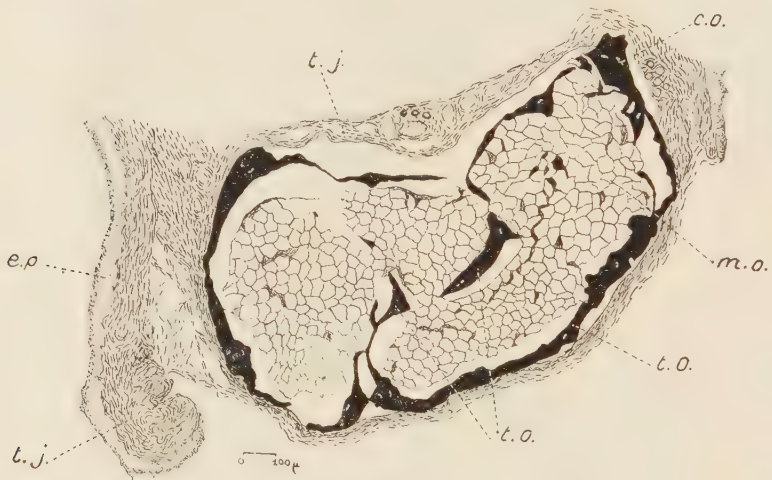


FIG. 13. — Arc branchial d'*Anguilla anguilla* (L.) adulte. Coupe transversale.

c.o. = cellules osseuses ; e.p. = épiderme ; m.o. = moelle osseuse ; t.j. = tissu conjonctif ; t.o. = tissu osseux.

cavité remplie de moelle (voir fig. 13) et dans celle-ci on peut voir çà et là quelques trabécules osseuses analogues à celles décrites par HAINES chez *Trigla capensis*. Nous avons ainsi affaire à un appareil de soutien à la fois résistant et léger. Chez *Carassius auratus* et chez *Gardonus rutilus*, l'étui osseux est plus épais et plus massif et la cavité médullaire beaucoup plus restreinte que chez *Anguilla anguilla*. Chez *Salmo irideus*, seule la partie centrale de l'épibranchial et du cératobranchial présente cette structure avec une cavité médullaire, tandis que les extrémités de ces mêmes pièces conservent leur cartilage central.

Ce quatrième mode d'ossification constitue en quelque sorte le passage vers une ossification de type enchondral, puisque déjà là le cartilage disparaît et laisse une cavité médullaire où commencent même à se déposer quelques parcelles de tissu osseux.

Avant de passer au mode d'ossification suivant, je crois qu'il est

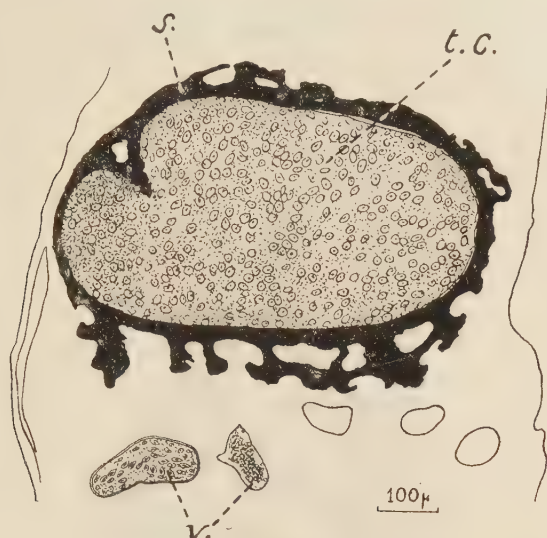


FIG. 14. — Arc branchial d'*Eupomotis gibbosus* L. adulte.
Schémas de coupes transversales à quatre stades différents.

s. = substance ostéoïde ; m.o. = moelle osseuse ; t.c. = tissu cartilagineux ;
v. = vaisseaux sanguins.

intéressant de s'arrêter un peu sur l'ensemble des résultats obtenus à propos des arcs branchiaux (troisième et quatrième modes d'ossi-

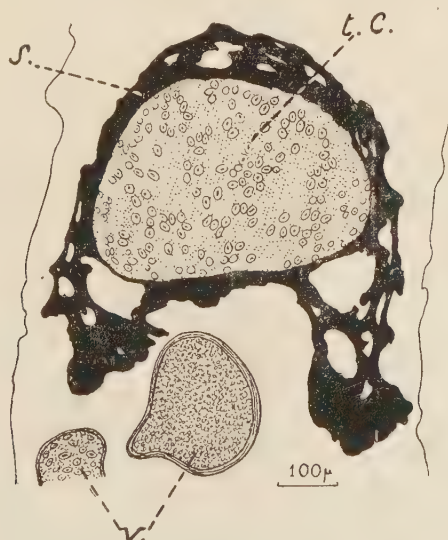


FIG. 15. — Arc branchial d'*Eupomotis gibbosus* L. (Voir fig. 14).

fication). Si l'on compare la structure des arcs branchiaux adultes de *Gambusia affinis*, *Cottus gobio*, *Gasterosteus aculeatus*, *Pygosteus pungitius*, etc... avec ce que l'on vient d'apprendre sur le développement général des arcs branchiaux, on constate que cette structure correspond à l'avant-dernier stade du développement complet, tandis que la structure des arcs branchiaux adultes de *Carassius auratus*, *Gardonus rutilus*, *Anguilla anguilla*, etc... correspond bien au dernier stade du développement général. Il y a donc des espèces chez qui les



FIG. 16. — Arc branchial d'*Eupomotis gibbosus* L. (Voir fig. 14).

arcs branchiaux vont jusqu'au bout de leur développement et des espèces où les arcs branchiaux s'arrêtent à l'avant-dernier stade. A ce point de vue, il y a donc des formes plus évoluées que d'autres. Or il est intéressant de remarquer que ce ne sont pas toujours celles qui sont considérées, pour d'autres caractères, comme les plus évoluées, qui le sont aussi dans le cas des arcs branchiaux. En effet, ce sont surtout des familles telles que les Cottidés, les Gastérostéidés, les Poecilidés, etc... familles considérées comme les plus évoluées à propos des caractères choisis par les systématiciens pour établir la classification des Téléostéens (caractères des nageoires, présence d'aiguillons, structure de la ceinture pectorale, etc...) qui se montrent les plus primitives dans l'ossification de leurs arcs branchiaux, puisqu'il y reste toujours du cartilage. Par contre, la plupart des familles que l'on place à la base de cette classification à cause de leurs nombreux

caractères primitifs, et principalement les Cyprinidés, les Siluridés et les Anguillidés, ont au contraire des arcs branchiaux ayant subi le processus complet du développement.



FIG. 17. — Arc branchial d'*Eupomotis gibbosus* L. (Voir fig. 14).

Rappelons cependant le cas de *Salmo irideus*, où chez l'adulte la partie médiane seule de l'épibranchial et du cératobranchial est allée jusqu'à la dernière étape, tandis que les parties distales sont restées à un stade moins avancé, ce qui permet de considérer cette espèce comme une forme intermédiaire entre les deux groupes envisagés : celui où le cartilage persiste chez l'adulte et celui où il disparaît totalement.

CINQUIÈME MODE D'OSSIFICATION.

Ce cinquième et dernier mode d'ossification est évidemment celui où le modèle cartilagineux est complètement détruit et remplacé par du tissu osseux. C'est un processus d'ossification assez peu fréquent chez les Poissons. On le trouve surtout réalisé dans le cas des *vertèbres*. La formation de celles-ci et la description détaillée de ce type d'ossification ayant déjà été faites minutieusement par STEPHAN (1898, 1900), nous n'y reviendrons pas. Signalons simplement qu'au cours de la disparition du cartilage, celui-ci ne présente pas les modifications classiques que l'on observe par exemple dans les os longs des Mam-

mifères. Les cellules cartilagineuses des Poissons Téléostéens, lorsqu'elles sont sur le point de disparaître ne sont pratiquement jamais disposées en files comme chez les Mammifères et elles ne sont que rarement hypertrophiées. C'est donc, si l'on veut, un mode d'*ossification enchondrale* tout de même assez spécial (fig. 18).

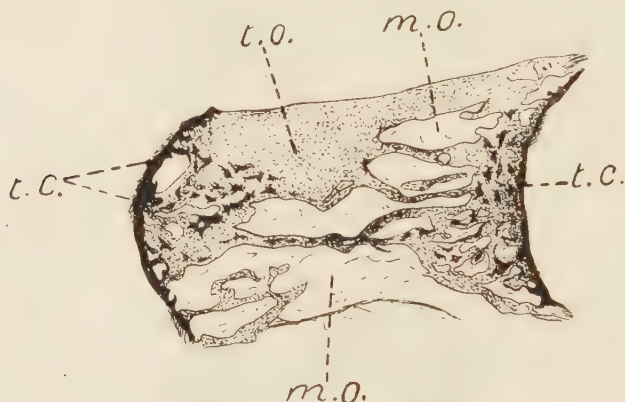


FIG. 18. — Ossification enchondrale d'une vertèbre (d'après P. STEPHAN, 1900).
m.o. = moelle osseuse ; t.c. = tissu cartilagineux ; t.o. = tissu osseux.

La série d'exemples que nous venons d'observer nous a permis, tout en étudiant le mode de formation des principales pièces squelettiques des Téléostéens, de mettre en évidence la grande variété des rapports entre le cartilage et l'os et de montrer que les phénomènes d'ostéogénèse chez ces animaux sont à la fois très simples et très variés.

Pour terminer ce chapitre, il nous reste à envisager la possibilité d'une métaplasie chondro-osseuse chez les Poissons Téléostéens. Ce sera l'objet du dernier paragraphe.

« Tissu mixte ».

En 1900, P. STEPHAN constate chez les Gadidés et chez le Brochet, la présence d'un tissu de soutien intermédiaire par certains caractères entre l'os et le cartilage et qu'il appelle « *tissu mixte* », mais cela ne l'empêche pas de conclure à la non-existence de métaplasie chondro-osseuse.

En 1934, HAINES reprend la question mais ne voit rien de particulier et compare l'ossification des arcs branchiaux des Poissons avec l'ossification des os longs des Tétrapodes.

En 1935, P. FLORENTIN fait une description du passage du cartilage à l'os dans les arcs branchiaux des Salmonidés et des Cyprinidés et reprend le terme de « *tissu mixte* » créé par STEPHAN, sans donner toutefois aucune indication nouvelle.

J'ai repris cette question en 1944 dans mon Diplôme d'Etudes

supérieures. Je me contenterai donc de rappeler brièvement ici le résultat de mes observations faites à cette époque. Chez *Salmo irideus*, les arcs branchiaux sont bien constitués par un cartilage central montrant une sorte de métaplasie vers la périphérie (voir fig. 19, extraite de mon Diplôme d'Etudes supérieures). Les chondroblastes d'abord volumineux et d'aspect bien arrondi, sont très souvent groupés par deux ou trois vers le centre. Puis au fur et à mesure que l'on va



FIG. 19. — Arc branchial de *Salmo irideus* Gibb. adulte. Coupe transversale montrant le « tissu mixte ».

c. = cellules cartilagineuses ou chondroblastes ; c.m. = cellules du tissu mixte ; m. = muscles striés ; n.c. = noyaux des cellules cartilagineuses ; s.c. = substance fondamentale du tissu cartilagineux ; s.m. = substance fondamentale du tissu mixte.

vers la périphérie, ces cellules se séparent les unes des autres, deviennent très étroites et allongées tangentiellement à la surface de la pièce squelettique ; elles ont alors tout à fait l'aspect de cellules osseuses. Cette modification de forme cellulaire est tout à fait semblable à ce que P. STEPHAN a appelé « tissu mixte » dans les arcs branchiaux des

Gadidés et du Brochet, dans la corne frontale de *Chimaera monstrosa*, dans la tête articulaire du maxillaire inférieur de *Tetrodon reticulatus* et dans la base des arcs vertébraux des Cyprinidés.

On a donc là un tissu intermédiaire entre l'os et le cartilage au point de vue de la forme des cellules ; j'ai cherché alors s'il n'y avait pas moyen de se baser sur d'autres critères pour définir plus exactement ce tissu.

J'ai d'abord étudié la substance fondamentale. La réaction argentine de VON KOSSA montre que cette substance est entièrement calcifiée tout comme si l'on avait affaire à un tissu osseux ; d'autre part, on peut constater qu'elle prend plus intensément le bleu de Mallory vers le bord que vers le centre, ce qui peut traduire une richesse plus grande en collagène, ou tout au moins un changement de propriétés chimiques. Enfin, elle tend de plus en plus vers un aspect fibreux qui est réalisé dans les autres pièces osseuses de *Salmo irideus*.

Puis j'ai ensuite essayé d'utiliser la nature des enclaves cellulaires comme autre critère de comparaison. En effet on sait que les cellules cartilagineuses sont caractérisées au point de vue histochemique par le fait qu'elles renferment des réserves de glycogène et de graisses alors que les cellules osseuses en sont dépourvues. Après avoir constaté sur une Civelte que les cellules cartilagineuses des Poissons contenaient exactement comme chez les Mammifères de nombreux globules graisseux tous bien mis en évidence soit par le Soudan III, soit par le Noir Soudan, j'ai essayé les mêmes réactions sur un arc branchial de Truite adulte. J'ai pu constater la présence de globules graisseux dans les cellules du tissu cartilagineux banal mais je n'en ai pas vu dans les cellules aplaties du « tissu mixte » ce qui les rapproche des cellules osseuses. Quant au glycogène, comme il s'en va assez difficilement des cellules cartilagineuses où il est emprisonné (il persiste même pendant le jeûne d'après GENDRE, 1938), on pourrait croire qu'il convient très bien comme critère. Malheureusement aux stades de développement que j'ai étudiés, les préparations se sont montrées négatives, alors que la fixation ne pouvait être mise en cause, du glycogène étant visible dans les organes voisins. Le glycogène ne peut donc pas être pris en considération pour cette question.

En résumé, on a là un tissu qui ressemble au tissu osseux par la forme de ses cellules, l'absence de graisse dans les cellules et la calcification de la substance fondamentale. Ce n'est cependant pas de l'os typique. Bien que FLORENTIN déclare qu'un tel tissu se trouve dans les arcs branchiaux des Salmonidés et des Cyprinidés, je n'ai observé sa présence que chez *Salmo irideus*. D'ailleurs les photographies données par FLORENTIN ne correspondent pas avec ce que STEPHAN et moi-même avons pu observer. Il me semble plutôt que ces photographies concernent les baguettes squelettiques insérées sur le bord convexe de l'arc et soutenant les branchies. Il y a d'ailleurs là également un contact très étroit entre le tissu cartilagineux et le tissu osseux, l'axe de la baguette étant constitué par des cellules cartilagineuses autour desquelles se trouve, soit de la substance ostéoïde (Pl. I, fig. 21), soit de l'os (Pl. I, fig. 20), selon les espèces.

En tout cas, il y a bien chez *Salmo irideus* adulte, un « *tissu mixte* » nous permettant d'envisager la possibilité d'une métaplasie chondro-osseuse. A propos d'un tissu semblable observé chez le Brochet adulte, STEPHAN nie la métaplasie en objectant qu'on ne voit pas bien comment le cartilage à stroma capsulaire, c'est-à-dire un tissu à peu près dépourvu de substance fondamentale, pourrait passer à la substance ostéoïde, tissu dans lequel il n'y a plus que de la substance fondamentale. Chez la Truite adulte, l'objection de STEPHAN n'est pas valable, étant donné qu'il n'y a pas de substance ostéoïde mais de l'os avec des cellules osseuses, et que le cartilage n'est pas à stroma capsulaire puisqu'il renferme de la substance fondamentale entre ses cellules ; nous avons donc en présence, deux tissus possédant tous deux des éléments cellulaires. D'autre part, le critère histochimique, nous l'avons vu, ferait prendre ce tissu pour de l'os, plutôt que pour du cartilage ; mais cela ne suffit quand même pas pour considérer ce tissu comme du tissu osseux, car il n'est pas non plus impossible qu'il y ait un rapport entre la calcification de la substance fondamentale d'une part, et les modifications cellulaires observées d'autre part.

A mon avis, il n'y a que deux façons d'expliquer l'existence de ce tissu mixte. Ou bien il s'agit d'un cartilage dont la substance fondamentale est calcifiée sur les bords et c'est cette calcification qui est responsable des modifications cellulaires observées, ou bien il s'agit d'un mode d'ossification rappelant l'ossification périchondrale décrite plus haut (troisième mode d'ossification) mais où le changement du périchondre en périoste au lieu de se faire brutalement, se ferait cette fois lentement et de façon progressive.

La première hypothèse ne me satisfait pas pleinement car il est fréquent qu'un cartilage se calcifie, mais les cellules cartilagineuses ne prennent pas pour cela l'aspect et les caractères des cellules osseuses. La seconde hypothèse, par contre, me semble meilleure car elle explique bien comment peut exister un tel tissu, intermédiaire entre le cartilage et l'os, ressemblant déjà à l'os par ses caractères, mais rattaché encore au cartilage par son origine.

Nota : Les figures 20 à 32 sont reportées sur les planches à la fin du volume.

CHAPITRE IV.

LE TISSU OSTÉOÏDE.

A. Principales variétés de tissus squelettiques calcifiés
chez les Poissons.

Chez les Vertébrés, il y a en principe trois tissus squelettiques calcifiés (indépendamment du tissu cartilagineux qui se calcifie quelquefois mais dont nous ne tiendrons pas compte ici). Ce sont : l'os proprement dit, l'*ivoire* que l'on appelle aussi parfois dentine, et l'*émail*. L'os et l'ivoire sont d'origine mésodermique, alors que l'émail est d'origine épidermique. L'ivoire dont la composition chimique est voisine de celle de l'os (environ 70 % de sels calcaires et 30 % de substance organique) se distingue de celui-ci principalement par le fait que ses cellules formatrices que nous appelons *odontoblastes*, restent à la surface de la substance fondamentale et que seuls leurs prolongements sont incorporés dans celle-ci.

Or chez les Poissons, il n'y a pas de différence bien tranchée entre l'os et l'ivoire car il existe des tissus intermédiaires. On peut donc par conséquent, dans cette classe, observer toute une variété de tissus squelettiques calcifiés que nous allons énumérer rapidement.

Nous avons tout d'abord le *tissu osseux vrai*, composé d'une substance fondamentale calcifiée et de cellules osseuses (les *ostéocytes*) incorporées dans cette substance fondamentale et de forme plus ou moins ramifiée. Le tissu osseux vrai constitue les parties principales du squelette d'un certain nombre de Téléostéens.

Puis nous avons un tissu dont la substance fondamentale également calcifiée ne renferme absolument aucun élément cellulaire ; c'est le *tissu ostéoïde*. Ce tissu ostéoïde des Poissons ne doit pas être confondu avec la « zone ostéoïde » que l'on rencontre au cours de l'ossification enchondrale dans les os longs des Vertébrés supérieurs et qui n'est autre que de la substance pré-osseuse. Cette zone ostéoïde n'a en effet qu'une durée éphémère, alors que le tissu ostéoïde des Poissons se calcifie comme le tissu osseux vrai et peut persister toute la vie exactement comme lui. Ce tissu ostéoïde se trouve dans le squelette d'un assez grand nombre de Téléostéens ; nous en verrons la répartition plus loin. A la surface de ce tissu se trouvent généralement de grosses cellules, de forme simple, appelées *ostéoblastes* mais qui n'envoient pas de prolongements à l'intérieur de la substance fondamentale. Nous avons donc là un tissu intermédiaire entre l'os proprement dit et l'ivoire.

Puis nous trouvons ensuite l'*ivoire* ou *dentine*, qui ne possède pas non plus de cellules dans sa substance fondamentale mais qui a, comme le tissu ostéoïde, des cellules périphériques appelées cette fois *odontoblastes*. La différence avec le tissu ostéoïde est que ces odontoblastes envoient des prolongements à l'intérieur de la substance fondamentale (*fibres de TOMES*). Ce tissu se trouve dans les dents des Téléostéens, ainsi que dans les écailles d'autres groupes de Poissons, notamment dans les écailles placoïdes des Sélaciens où elle est recouverte d'une couche d'*émail* d'origine épidermique.

D'après STEPHAN (1900), quelques Téléostéens du groupe des Plecognathes (notamment *Tetrodon reticulatus*) posséderaient des os formés par un tissu osseux spécial comprenant non seulement des cellules osseuses incorporées dans la substance fondamentale, mais également des canalicules dentaires émanant de cellules périphériques, lesquelles ressemblent aux odontoblastes de l'ivoire. Ce tissu présente donc à la fois des caractères de l'os et de l'ivoire. Je n'ai pas eu l'occasion d'observer moi-même ce tissu qui est très rare chez les Téléostéens. Il serait plus fréquent d'après STEPHAN chez les Holostéens.

Nous citerons également pour mémoire toute une série de tissus qui se rencontrent dans les écailles des différents groupes de Poissons, à savoir : l'*isopédine*, sorte d'os feuilleté, lamellaire, dépourvu d'ostéocytes et qui constitue les écailles cycloïdes et cténoïdes des Téléostéens, la *cosmine*, sorte d'ivoire où les odontoblastes sont logés dans des anfractuosités d'où partent les fibres de Tomes, et que l'on trouve dans les écailles des Crossoptérygiens et de certains Dipneustes, et la *ganoïne*, sorte de matière osseuse stratifiée, dépourvue d'ostéocytes, luisante et très dure, que l'on rencontre chez *Lepidosteus* et chez les Crossoptérygiens. Nous ne reviendrons pas sur ces tissus d'importance secondaire au cours de notre travail.

Enfin pour terminer ce rapide inventaire, rappelons l'existence du *tissu mixte* que nous avons décrit plus haut (voir Chapitre III) et qui forme la transition entre le tissu osseux vrai et les tissus cartilagineux dont nous ne nous occupons pas ici.

B. Etude détaillée et interprétation du tissu ostéoïde des Téléostéens.

1. — GÉNÉRALITÉS.

Parmi tous les tissus que nous venons d'énumérer, si l'on met à part le cas du « *tissu mixte* » que nous avons étudié par ailleurs, le tissu le plus extraordinaire semble être, à priori, le *tissu ostéoïde*. Il existe donc, chez les Poissons Téléostéens, en plus du tissu osseux normal, un tissu osseux particulier caractérisé par l'absence totale de cellules dans la substance fondamentale. L'existence de ce curieux tissu fut signalée par KOLLIKER en 1853 et c'est le même auteur qui en 1858 lui donna le nom de « *substance ostéoïde* ». KOLLIKER constata

de plus que ce tissu acellulaire constituait le squelette des Plectognathes, des Lophobranches, des Anacanthiniens, des Acanthoptérygiens sauf le genre *Thynnus*, des Esocidés et des Poecilidés, alors que le squelette des autres Téléostéens était formé par de l'os normal possédant des cellules osseuses ou ostéocytes. Signalons en passant que chez les Sélaciens, les plaques basales des dents et des écailles placoides, c'est-à-dire les seuls os du squelette de ces animaux, sont également dépourvues de cellules.

L'existence d'un tissu sans cellule lui paraissant étrange, SCHMIDT-MONNARD, en 1883, observa à la périphérie des organes constitués de tissu ostéoïde, la présence d'une couche de cellules qu'il appela « *ostéoblastes* ». Ce sont des cellules qui ne sont pas incorporées dans la substance fondamentale. Elles sont tout à fait comparables aux odontoblastes de l'ivoire des dents décrits par WALDEYER quelques années auparavant (1865) et aux cellules des écailles placoides des Sélaciens décrites par HERTWIG en 1874 ; c'est pourquoi KLAATSCH (1890) proposa de réunir les ostéoblastes et les odontoblastes sous le nom plus général de « *sclérobastes* », terme encore employé par certains auteurs pour désigner ces cellules, dont l'aspect rappelle un peu celui de cellules épithéliales ainsi que j'ai pu l'observer très souvent.

Lorsqu'il découvrit la substance ostéoïde, KOLLIKER, considérant que l'absence des cellules était un caractère d'infériorité, pensait alors que ce tissu était plus primitif que l'os banal. Mais KLAATSCH, se basant sur la répartition de ce tissu dans les différentes familles de Téléostéens, déclara au contraire que le tissu ostéoïde était plus évolué que le tissu osseux vrai et qu'il en dérivait car selon lui « les Acanthoptérygiens sont plus évolués que la plupart des Physostomes ». En effet les familles de Poissons à squelette ostéoïde sont plus évoluées sur certains points que les familles à squelette osseux. Voulant élucider ce problème, STEPHAN (1900) compara la forme des corpuscules osseux chez un certain nombre d'espèces à squelette formé d'os véritable. Il constata une simplification dans la taille et dans les prolongements des corpuscules en allant des formes primitives aux formes évoluées et en conclut, comme KLAATSCH, que le tissu ostéoïde, chez qui les cellules étaient complètement disparues, était bien un tissu plus évolué que le tissu osseux ordinaire. Par contre, RETTERER en 1905, après avoir étudié l'Alose comme type de Poisson à cellules osseuses et le Merlan comme type dépourvu de cellules osseuses, considéra la substance ostéoïde comme une substance osseuse primitive, un peu analogue à la substance préosseuse des Vertébrés supérieurs. Les avis étaient donc très partagés et le problème resta en suspens. Depuis, plusieurs auteurs ont signalé la présence du tissu ostéoïde au cours de travaux divers sur le squelette des Poissons ; c'est ainsi que ROTH (1920) a observé de la substance ostéoïde dans les plaques osseuses latérales des Gastérostéidés et TRETJAKOFF (1925) en a décrit dans les rayons de nageoires des Pleuronectes et des Plectognathes ; mais aucun d'entre eux n'en a tiré de conclusions nouvelles. La paléontologie n'a pas apporté de solution à ce problème car les représentants des familles actuelles

de Téléostéens, que ce soient des familles à tissu ostéoïde ou à tissu osseux, sont apparus ensemble vers la fin de l'ère secondaire (Crétacé), période à laquelle ils se sont substitués aux Ganoïdes. On peut tout juste remarquer que les Sélaciens, dont une petite partie du squelette est à l'état ostéoïde (écailles placoïdes et dents), le reste étant du cartilage, sont apparus avant.

Voulant vérifier la théorie de KLAATSCH et de STEPHAN disant qu'il existe chez les Poissons une tendance générale à l'exclusion des cellules hors de la substance osseuse et que le tissu ostéoïde est un tissu secondairement acquis, dérivant du tissu osseux vrai par perte des cellules, j'ai voulu voir si au cours du développement le tissu ostéoïde n'était pas précédé de tissu osseux vrai. Pour cela j'ai pris des os de Téléostéens appartenant à différentes espèces et à des âges divers pour chaque espèce. Après fixation au Bouin trichloracétique et inclusion à la paraffine, les os ont été coupés en entier et les coupes colorées par des méthodes simples telles que l'hémalun-éosine, le Mallory, le mucicarmin de Mayer, l'hémalun-picro-indigo-carmin, etc... Afin de pouvoir généraliser plus facilement les résultats, les os qui ont été choisis pour cette étude sont les uns des os de cartilage (arcs branchiaux), les autres des os de membrane (rayons des nageoires).

2. — RECHERCHES SUR LES ARCS BRANCHIAUX.

Nous avons vu au cours du chapitre précédent la façon dont se forme le squelette des arcs branchiaux chez les Téléostéens. Nous avons vu notamment que l'os fait son apparition sous forme d'un anneau entourant étroitement le cartilage primitif. Or j'ai pu constater que, chez tous les jeunes Téléostéens dont j'ai pu observer des coupes de la région branchiale, cet anneau osseux est en réalité formé par du tissu ostéoïde. Celui-ci apparaît d'abord sous forme d'une mince lamelle autour du cartilage. Puis cette lamelle ostéoïde s'épaissit. Chez les Esocidés, les Poecilidés, les Gastérostéidés, les Centrarchidés, les Cottidés et les Blenniidés, cette lamelle reste ostéoïde indéfiniment quel que soit l'âge de l'animal (revoir fig. 7, 8 et 9). Par contre, chez les Clupéidés, les Salmonidés, les Characinidés, les Cyprinidés, les Siluridés et les Anguillidés, cette lamelle ostéoïde en s'épaississant incorpore les ostéoblastes situés à la périphérie et devient ainsi du tissu osseux véritable (revoir fig. 10, 11, 12 et 13). On a alors chez ces Téléostéens devenus adultes des arcs branchiaux formés par du tissu osseux normal avec des ostéocytes incorporés dans la substance fondamentale.

Dans ces arcs branchiaux formés d'os véritable avec des cellules osseuses, j'ai pu constater que celles-ci avaient une forme relativement simple, ovale, assez aplatie et allongée en pointes aux deux extrémités comme un fuseau. Elles ressemblent d'ailleurs aux cellules du « *tissu mixte* » que j'ai décrites plus haut chez *Salmo irideus*. Je n'ai jamais vu d'exemple, chez les Téléostéens que j'ai étudiés, où des ramifications compliquées fassent communiquer les cellules osseuses les unes avec les autres, comme STEPHAN l'a décrit pour les os de Ganoïdes.

Il y a donc des Téléostéens chez qui les arcs branchiaux, à l'état adulte, sont constitués par du tissu ostéoïde, et d'autres chez qui ils sont constitués par de l'os typique, mais de toute façon les arcs branchiaux des jeunes alevins passent obligatoirement par un stade à tissu ostéoïde. C'est celui-ci qui en s'accroissant englobe des cellules pour devenir de l'os normal dans le cas des Téléostéens à tissu osseux vrai. C'est ainsi par exemple que chez *Anguilla anguilla* où ces phénomènes sont particulièrement nets, les arcs branchiaux à l'état adulte sont formés par de l'os avec des cellules bien visibles (voir fig. 13), tandis que chez la Civelle, les mêmes arcs branchiaux sont constitués par de la substance ostéoïde sans aucune cellule osseuse (Pl. I, fig. 22). Ce n'est que lorsque la transformation du tissu ostéoïde en tissu osseux véritable a eu lieu que le cartilage central disparaît pour laisser place à une cavité médullaire comme je l'ai décrit au chapitre III (quatrième mode d'ossification).

On peut donc dire qu'il y a d'abord apparition d'une mince lamelle de substance anhiste autour du cartilage préformé ; puis lorsque cette lamelle s'accroît, elle peut englober des cellules et donner de l'os comme c'est le cas de l'Anguille dont nous venons de voir l'exemple, ou bien elle n'en englobe pas et demeure à l'état de substance ostéoïde comme c'est le cas chez *Gambusia affinis* entre autres.

Le fait que le tissu osseux est précédé au cours du développement par du tissu ostéoïde montre que les espèces possédant, à l'état adulte, de la substance ostéoïde, ont en réalité gardé ce caractère de leur jeune âge. Par conséquent elles sont moins évoluées à ce point de vue que celles dont la substance ostéoïde s'est transformée en os par acquisition de cellules osseuses au cours du développement. Donc, s'il est vrai, comme le dit KLAATSCH, que les Poissons possédant de la substance ostéoïde (c'est-à-dire les Esocidés, les Poecilidés, les Gastérostéidés, les Centrarchidés, les Cottidés, les Blenniidés, etc...) sont justement plus évolués par beaucoup d'autres caractères que ceux qui possèdent de l'os véritable (c'est-à-dire les Clupéidés, les Salmonidés, les Characiniidés, les Cyprinidés, les Siluridés, les Anguillidés, etc...) ils sont cependant inférieurs à ces derniers par l'absence de cellules osseuses dans leurs tissus squelettiques.

C'est la seconde fois dans ce travail (voir Chapitre III, 4^e mode d'ossification, p. 24) que nous trouvons des résultats en désaccord avec la conception classique de l'évolution à l'intérieur du groupe des Téléostéens. Nous pouvons donc conclure que dans une même famille, tous les caractères ne sont pas évolués dans le même sens, les résultats de ce travail étant en effet en désaccord avec les caractères ayant servi à établir la hiérarchie classique des familles de Téléostéens, ce qui n'empêche d'ailleurs pas celle-ci d'être encore valable, car tous les caractères n'ont pas la même valeur et certains doivent l'emporter sur d'autres. Mais cela fait tout de même ressortir le fait qu'il est difficile, à l'intérieur d'un groupe aussi homogène que celui des Téléostéens, de parler de « formes évoluées » et de « formes primitives » avec autant d'assurance qu'on peut le faire lorsqu'on considère les différents groupes de la classe des Poissons.

3. — RECHERCHES SUR LES RAYONS DES NAGEOIRES.

Nous avons vu (Chapitre I) que les rayons des nageoires, ou *lépidotriches*, sont des os d'origine dermique faisant partie de l'exosquelette, c'est-à-dire des os profondément différents de ceux que nous venons d'étudier ci-dessus. C'est pourquoi j'ai pensé qu'il était intéressant d'y observer aussi la répartition des tissus osseux et ostéoïde. Je me suis servi pour cela des mêmes techniques histologiques que celles que j'ai utilisées pour l'étude des arcs branchiaux.

J'ai pu constater ainsi que chez les espèces appartenant à des familles telles que les Poecilidés, les Gastérostéidés, les Centrarchidés, les Labridés, les Cottidés, etc... les lépidotriches sont toujours constitués par de la substance ostéoïde. Ceci est vrai quel que soit le niveau considéré et quel que soit l'âge de l'animal étudié (Pl. II, fig. 23).

Mais chez les espèces appartenant à des familles telles que les Salmonidés, les Cyprinidés, les Siluridés ou les Cobitidés, il n'en est plus de même. Chez le jeune, il y a bien encore de la substance ostéoïde à tous les niveaux de chaque rayon, mais chez l'adulte la substance ostéoïde est remplacée, au moins sur une grande partie du rayon, par du tissu osseux typique avec des ostéocytes incorporés à la substance fondamentale (Pl. II, fig. 24 et Pl. III, fig. 25).

En somme, la répartition des deux tissus de soutien dans les nageoires des différentes familles de Téléostéens semble correspondre exactement à celle que j'ai déjà constatée dans les arcs branchiaux de ces mêmes familles, bien que ces deux catégories d'organes soient très différentes l'une de l'autre, puisque les arcs branchiaux sont des os de cartilage appartenant au squelette profond, alors que les rayons des nageoires sont des os de membrane appartenant au squelette superficiel.

Mais l'examen des lépidotriches est plus intéressant à ce point de vue que celui des arcs branchiaux. En effet les nageoires sont des organes qui s'accroissent pendant toute la vie. Il n'est donc pas même nécessaire d'étudier les nageoires sur des poissons d'âge différent pour voir le passage du tissu ostéoïde au tissu osseux chez les espèces qui possèdent du tissu osseux normal à l'état adulte. Chez un tel individu adulte, on peut voir, sur un même rayon, du tissu ostéoïde dans la partie encore jeune du rayon et du tissu osseux normal dans la partie déjà formée depuis un certain temps.

Nous verrons plus loin (complément au chapitre IV) que les nouveaux articles des lépidotriches articulés se constituent toujours à l'extrémité distale du rayon, ce qui fait que le rayon s'accroît principalement par addition successive de nouveaux articles au bout des anciens (M. PRENANT, 1936). Or l'examen de mes coupes histologiques montre que l'extrémité terminale du rayon est toujours ostéoïde quelle que soit l'espèce étudiée (Pl. III, fig. 26 et Pl. IV, fig. 27). De plus, s'il s'agit d'une espèce possédant de l'os véritable à l'état adulte, on voit alors, en examinant les différents niveaux, au fur et à mesure que l'on

s'éloigne de l'extrémité distale, ce tissu ostéoïde incorporer des cellules (Pl. V, fig. 30 et Pl. VI, fig. 31) et finir par devenir un tissu osseux normal.

Nous verrons également plus loin (complément au chapitre IV) que l'article basilaire des rayons articulés diffère des autres articles en ce sens qu'il continue à s'allonger au cours de la vie (M. PRENANT, 1937), tandis que les articles moyens et terminaux ont une longueur à peu près fixée dès leur formation. Or, en examinant attentivement mes préparations, j'ai remarqué que dans la partie tout à fait proximale de l'article basal il y a fréquemment une raréfaction assez notable de cellules, à tel point que parfois même on a l'impression d'avoir à nouveau une zone à substance ostéoïde mais sur une longueur très faible (Pl. IV, fig. 28 et Pl. V, fig. 29). Plus haut, cette zone est rapidement remplacée par le tissu osseux normal qui constitue tout le reste de cet article basilaire. De plus, au point de vue morphologique, on peut remarquer que le diamètre de ce dernier article n'est pas partout le même et qu'il diminue justement dans la partie tout à fait proximale. C'est donc probablement à ce niveau précis que doit se faire la croissance de l'article basilaire.

L'étude des rayons de nageoires offre encore un autre avantage sur celle des arcs branchiaux ; elle permet de se livrer plus facilement à des expériences de régénération. Chacun sait en effet, que les nageoires des Poissons présentent une grande faculté de réparation. De nombreux travaux ont d'ailleurs été faits sur ce sujet ; nous y reviendrons plus loin (Chapitre V). Mais laissant provisoirement de côté la façon dont se fait la régénération osseuse, je dirai cependant qu'en ce qui concerne les rapports entre la substance ostéoïde et le tissu normal, j'ai pu constater sur des Cyprinidés (*Carassius auratus*, *Gobio gobio*, *Rhodeus amarus*) et sur des Siluridés (*Ameiurus nebulosus*) adultes, qu'au cours de la régénération, le premier tissu de soutien qui apparaît est ostéoïde (Pl. VI, fig. 32). Le tissu osseux vrai ne se reforme donc que secondairement dans les rayons régénérés. Par conséquent, au cours de la régénération, le processus est le même qu'au cours du développement et de la croissance normale.

4. — CONCLUSION SUR LE TISSU OSTÉOÏDE.

De cette étude sur les arcs branchiaux et sur les rayons osseux des nageoires, et après comparaison des résultats obtenus, nous pouvons tirer la conclusion suivante :

Le tissu ostéoïde, caractérisé par l'absence de cellule osseuse dans la substance fondamentale, se rencontre chez tous les Téléostéens au début du développement de leur squelette. Mais chez certaines espèces, les pièces squelettiques restent toute la vie à l'état ostéoïde, alors que chez d'autres le tissu ostéoïde est remplacé peu à peu par du tissu osseux normal, caractérisé par la présence de cellules osseuses incorporées dans la substance fondamentale (voir tableau n° 2).

Tableau n°2

Répartition des tissus osseux et ostéoïde
chez les Téléostéens étudiés à l'état adulte

1. <u>Tissu ostéoïde</u>	Esocidés (1) Poecilidés Gastérostéidés Centrarchidés Labridés Cottidés Blenniidés
2. <u>Tissu osseux</u>	Clupéidés Salmonidés Characinidés Cyprinidés Siluridés Cobitidés Anguillidés

- (1) Dans la classification récemment proposée par L.S. BERG (1947), les Esocidés, dont le squelette est formé de tissu ostéoïde persistant, sont placés dans l'ordre des Clupéiformes, à côté de familles dont le squelette adulte est constitué par du tissu osseux véritable (Clupéidés, Salmonidés, etc...). Or dans l'ancienne classification, les Esocidés voisinaient avec les Poecilidés dans l'ordre des Haplomes et semblaient donc mieux à leur place, à ce point de vue, que maintenant.

Par conséquent, le tissu ostéoïde ne semble pas être un tissu dégénéré qui a perdu ses cellules, mais au contraire un tissu jeune, capable de se transformer par la suite en tissu osseux. Il correspond à un stade de développement par lequel passe le squelette de tous les Téléostéens que j'ai étudiés et me paraît donc pouvoir être considéré comme un tissu moins évolué que le tissu osseux normal. Les Poissons dont le squelette adulte est formé de substance ostéoïde ont donc gardé ce caractère de leur jeune âge ; c'est une sorte de néoténie, c'est-à-dire de persistance de caractère infantile chez l'adulte.

Il est permis de se demander comment des os constitués par un tel tissu, entièrement dépourvu de cellules, peuvent conserver leur vitalité. On a coutume de penser en effet que les cellules osseuses sont indispensables à la vie de l'os. Certains auteurs, notamment STEPHAN et KLAATSCH, ont prétendu, pour expliquer ce fait, que les os formés de substance ostéoïde étaient beaucoup plus grêles que les autres, et que ce tissu ne pouvait exister que sous forme de minces lamelles facilement accessibles aux actions nutritives de l'extérieur. Or je tiens à souligner que si ces os sont parfois minces, ce n'est pas un caractère obligatoire et j'ai pu constater dans bien des cas, notamment chez les Centrarchidés et les Labridés, que les dépôts ostéoïdes pouvaient avoir une aussi grande épaisseur que ceux formés par du tissu vrai, malgré l'absence des cellules.



FIG. 33. — Portion d'un arc branchial d'alevin d'*Esox lucius* L. de 4,5 cm de long. Coupe transversale.

c. = cellules cartilagineuses ou chondroblastes ; c.j. = cellules conjonctives ; k. = capsules des cellules cartilagineuses ; m. = muscles striés ; n.c. = noyaux des cellules cartilagineuses ; s. = substance ostéoïde ; s.c. = substance fondamentale du tissu cartilagineux.

Nous avons vu ci-dessus, qu'au début du développement, le tissu osseux et le tissu ostéoïde possèdent tous deux des cellules que l'on appelle des *ostéoblastes*. Or, comme nous avons vu également que les ostéocytes de l'os adulte dérivent de ces ostéoblastes, il semble assez naturel de rechercher les éléments trophiques du tissu ostéoïde dans les ostéoblastes en question, ainsi que dans les cellules conjonctives voisines. En effet, indépendamment de la couche d'ostéoblastes appli-

quée étroitement contre la surface externe du tissu ostéoïde et dont l'aspect varie au cours de l'ostéogénèse, j'ai constaté également des modifications assez fréquentes des cellules périphériques voisines. On peut voir souvent les cellules du tissu conjonctif voisin s'étirer et s'aligner parallèlement à la surface de la pièce constituée de tissu ostéoïde, parfois même sur plusieurs rangées, ce qui laisse penser à un rapport possible entre les deux tissus. A ce point de vue, un des cas les plus nets parmi ceux qu'il m'a été donné d'observer est celui d'un arc branchial d'alevin d'*Esox lucius* de 4,5 cm de long (voir fig. 33). Autour de cet arc branchial formé d'un manchon ostéoïde entourant un cartilage central, se trouve un tissu conjonctif dense, dont les cellules, très nombreuses, formées par un volumineux noyau et très peu de cytoplasme, sont allongées et toutes alignées dans le même sens, c'est-à-dire parallèlement au bord de l'arc ; il y en a ainsi plusieurs rangées à peu près parallèles.

Ceci montre qu'il est peut-être nécessaire de considérer non plus la substance ostéoïde seule, mais l'ensemble formé par la substance calcifiée et par les cellules périphériques *non incorporées* dans cette substance calcifiée. De cette façon on a alors un tissu qui mérite vraiment le nom de tissu et qui peut rester viable indéfiniment sans que cela nous étonne outre-mesure.

En terminant ce chapitre sur le tissu ostéoïde, je signale qu'une observation récente, dans le domaine de la pathologie, confirme ma façon d'interpréter la signification du tissu ostéoïde. Le D^r L. THOMAS a montré (1948) que les tumeurs osseuses chez les Poissons sont toujours formées par du tissu ostéoïde, ce qui concorde avec les résultats que j'ai exposés au cours de ce chapitre.

COMPLÉMENT AU CHAPITRE IV.

ÉTUDE DU MODE DE CROISSANCE
DES LÉPIDOTRICHES ARTICULÉS.

Ce complément au chapitre IV malgré son titre, n'a nullement l'intention de passer pour un travail de biométrie ; un tel travail risquerait d'ailleurs de nous entraîner beaucoup trop loin des questions dont nous nous occupons ici. Il s'agit simplement pour nous d'essayer de se faire une idée sur la façon dont s'effectue la croissance dans les rayons mous des nageoires des Téléostéens, afin de voir si ce que nous trouverons concorde bien avec les résultats que l'histologie vient de nous fournir à propos de l'interprétation du tissu ostéoïde.

TECHNIQUES D'EXAMEN.

Les techniques qui peuvent servir pour l'examen morphologique des nageoires à différents stades sont toutes très simples. Les principales sont :

a) *L'examen microscopique par simple transparence*, sans coloration préalable, après montage dans des milieux plus ou moins réfringents, tels que le baume du Canada, la glycérine, le salicylate de méthyle, le sirop d'Apathy, etc...

b) *L'examen après digestion tryptique*, en présence de carbonate de sodium. On sait en effet que les actinotriches et les rayons osseux résistent à la trypsine *en milieu basique*, ce qui constitue un excellent moyen pour les dégager des tissus voisins. Cette digestion artificielle doit être *ménagée*, afin de conserver autant que possible les rapports entre les différents articles osseux.

c) *L'examen après éclaircissement à la potasse*. Cette macération se fait dans la potasse à 10 % et est ensuite complétée s'il y a lieu par une *dissociation mécanique* à l'aide de fines aiguilles. Cette méthode est particulièrement utile pour dégager la région tout à fait proximale des rayons, laquelle se trouve assez profondément enfoncée dans le muscle et dans le conjonctif, et de ce fait n'est pas visible simplement par transparence.

d) *L'examen après imprégnation argentique*. Cette imprégnation peut se faire sur des nageoires entières ou bien sur des nageoires dont on a arraché l'épiderme en grattant avec un scalpel pour faciliter la

pénétration du sel d'argent. On peut employer soit une solution de nitrate d'argent concentré (technique de von Kossa), soit des solutions de nitrate d'argent très diluées telles que celles dont l'emploi est préconisé par M. PRENANT (1936).

e) *L'examen après coloration à l'alizarine (alizarine sulfonate de soude) des parties calcifiées.* L. BERTIN a d'ailleurs indiqué en 1941 une méthode combinant l'action de l'alizarine et celle de la potasse. L'alizarine peut également être employée en injection sur l'animal vivant (M. PRENANT, 1936, 1937, 1938).

STRUCTURE GÉNÉRALE DES LÉPIDOTRICHES ARTICULÉS.

Les lépidotriches articulés sont tous construits à peu près sur le même modèle. Chaque rayon est formé de deux baguettes osseuses symétriques, parallèles et indépendantes l'une de l'autre (voir fig. 34),

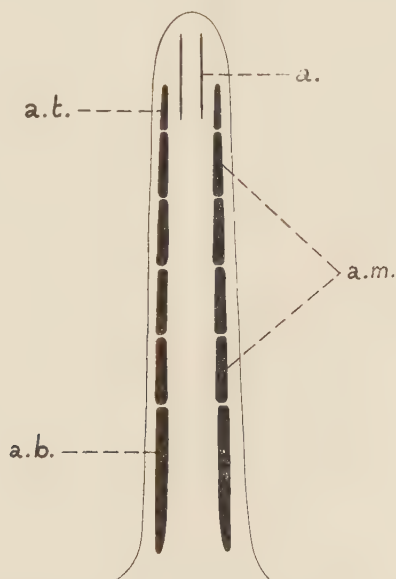


FIG. 34. — Structure schématique d'une nageoire de Poisson Téléostéen vue en coupe longitudinale frontale.

a. = actinotriches ; a.b. = article basilaire ; a.m. = articles médians ; a.t. = article terminal.

si bien qu'en réalité chacun de ces rayons est double. Par conséquent, dans les nageoires impaires, chaque rayon est composé d'une baguette *droite* et d'une baguette *gauche*, tandis que dans les nageoires paires chaque rayon est composé d'une baguette *supérieure* et d'une baguette *inférieure*.

Les deux baguettes osseuses sont constituées d'une manière iden-

tique l'une à l'autre ; elles sont formées chacune d'un certain nombre d'articles empilés les uns sur les autres. En général, le nombre d'articles de chacune des deux baguettes parallèles est le même, mais il arrive fréquemment que les articulations ne soient pas au même niveau dans les deux baguettes par suite d'un léger décalage.

Ces baguettes osseuses disposées par paires ont la forme d'une gouttière, si bien qu'en coupe transversale (voir fig. 35), les lépidotriches se présentent sous forme d'arcs de cercle orientés de façon que dans chaque paire, la convexité soit tournée vers le dehors et la concavité vers le dedans ; les deux concavités se font donc face et délimitent entre elles un espace rempli d'un tissu conjonctif dense appelé « *conjonctif médian* » ; c'est dans cette sorte de conduit que passent les nerfs et les vaisseaux qui alimentent chaque rayon.

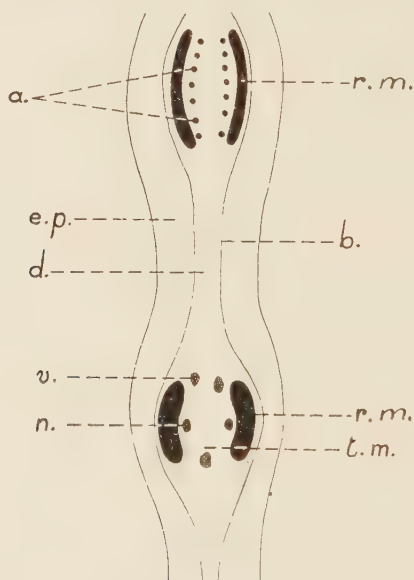


FIG. 35. — Structure schématique d'une nageoire de Poisson Téléostéen vue en coupe transversale.

a. = actinotriches ; b. = membrane basale sous-épidermique ; d. = derme ; c.p. = épiderme ; n. = nerf ; r.m. = rayon mou ; t.m. = tissu conjonctif médian ; v. = vaisseaux sanguins.

Souvent dans la partie distale de la nageoire, les rayons mous sont ramifiés ; les lépidotriches présentent alors un certain nombre de bifurcations successives dont nous reparlerons.

Enfin les articles terminaux des rayons, ou de leurs ramifications, enveloppent un faisceau de filaments dont la base se trouve à l'intérieur de l'espace limité par les deux baguettes symétriques du rayon et dont l'extrémité dépasse largement celle des derniers articles osseux.

Ces faisceaux de filaments situés ainsi entre les baguettes osseuses et en position terminale forment une série de pinceaux qui contribuent à soutenir la bordure marginale de la nageoire chez les Téléostéens adultes. Ces filaments sont appelés des « *actinotriches* ». Ils sont constitués par une substance intermédiaire, par ses propriétés, entre le collagène et l'élastine, et que l'on nomme « *élastoïdine* ». Ce sont les mêmes filaments qui constituent à eux seuls la charpente des nageoires chez les jeunes alevins avant que les rayons osseux fassent leur apparition. Ce sont eux également qui soutiennent la nageoire adipeuse des Salmonidés, des Siluridés et de certains Characinidés, nageoire adipeuse dans laquelle, même chez l'adulte, il n'y a jamais de rayons osseux. Ce sont enfin des filaments à peu près semblables qui, insérés sur des pièces cartilagineuses, forment le squelette des nageoires chez les Sélaciens ; on les appelle dans ce cas des « *cératotriches* ».

La structure de tous les lépidotriches articulés semble être très uniforme. Tous les rayons articulés que j'ai pu observer, sont constitués de la façon indiquée ci-dessus, y compris ceux dont l'aspect un peu particulier pourrait, de prime abord, donner à penser qu'il en est peut-être autrement. C'est ainsi qu'en observant des rayons mous tels que ceux qui constituent le gonopode des Poecilidés mâles (ex. : *Gambusia affinis*, *Lebistes reticulatus*, etc...), ou bien ceux qui forment les ventouses des *Lepadogaster* et des *Gobius* ou encore ceux qui forment les rayons sétacés des nageoires pectorales de certains Gobiidés tels que *Gobius paganellus*, j'ai pu constater qu'ils ne faisaient exception en aucune façon à la règle générale, malgré leur aspect particulier. Il semble donc n'exister qu'un seul modèle véritable de rayons mous. Les quelques variations qui peuvent être constatées sont toujours des variations d'importance très secondaire ; elles portent généralement soit sur le nombre et la longueur des articles, soit sur la forme générale des rayons.

Les variations portant sur le nombre et la longueur des articles vont nous donner des indications sur la *croissance en longueur* des rayons, tandis que les variations de la forme générale des rayons vont nous en donner sur leur *croissance en épaisseur*.

CROISSANCE EN LONGUEUR.

Pour avoir une idée de la façon dont se fait la croissance en longueur des rayons mous chez les Téléostéens, il faut d'une part se livrer au dénombrement des articles constituant ces rayons et d'autre part mesurer la longueur de ces articles à l'aide d'un micromètre oculaire. Les recherches doivent porter évidemment sur les nageoires de plusieurs espèces et sur des stades de développement différents pour chacune de ces espèces. Bien entendu, il faut que ces mesures soient effectuées sur un assez grand nombre d'individus, pour chaque stade étudié, afin de pouvoir prendre des valeurs moyennes ayant une signification.

1°) *Nombre des articles.*

Sur un élevage de jeunes alevins de *Salmo irideus* en eau courante, à une température d'environ 10°, j'ai d'abord pu observer l'ordre d'apparition des articles des rayons osseux. Prenons par exemple le cas des deux rayons médians de la nageoire caudale, rayons qui sont les premiers formés. Le premier article apparaît à peu près au moment de l'éclosion et s'allonge ensuite un peu chaque jour. Puis vers le cinquième ou sixième jour après l'éclosion, il se fait une articulation qui limite distalement ce premier article et un second article commence alors à se former à l'extrémité du premier. Il grandit également progressivement, mais son allongement se termine très tôt et l'articulation qui va marquer son extrémité apparaît beaucoup plus vite que celle du premier article. Vers le neuvième jour, commence alors la formation d'un troisième article qui vient s'ajouter à l'extrémité distale du second, lequel ne change plus désormais. La formation de ce troisième article se termine vers le vingt et unième jour environ. Nous avons donc à cette date, trois articles situés les uns au bout des autres et apparus successivement, le plus distal étant le plus récemment formé. Autour du vingt-cinquième jour, des traces de bifurcation commencent à se manifester et on peut voir, distalement à la troisième articulation, le point de départ des deux branches qui vont représenter le quatrième article. Ces deux branches sont complètement réalisées vers le trente-cinquième jour. Un cinquième article commence à se constituer à l'extrémité de chacune d'entre elles vers le quarantième jour et ainsi de suite. Ainsi l'étude de l'apparition et du nombre des articles dans les rayons médians de la nageoire caudale de *Salmo irideus* nous permet donc de dire :

a) le nombre des articles constituant un même rayon de nageoire augmente avec l'âge de l'animal ;

b) les articulations se font bien de façon primaire, comme le pense M. PRENANT (1936, 1937) qui n'a pourtant étudié que la croissance post-embryonnaire, et non par fragmentation secondaire d'un ruban osseux continu comme le croyait HARRISSON (1890) qui, lui, n'avait étudié que des embryons probablement très jeunes ;

c) les nouveaux articles se forment toujours à l'extrémité terminale des anciens et jamais à la base de la nageoire.

Cette croissance en longueur, par addition avec le temps, de nouveaux articles à l'extrémité des anciens peut donc être qualifiée de *croissance terminale* puisque c'est dans la région terminale que se font les nouveaux articles au fur et à mesure qu'ils apparaissent.

Il n'est évidemment pas nécessaire de suivre l'ordre d'apparition des articles dans un rayon donné chez de jeunes alevins, comme nous venons de le faire chez *Salmo irideus*, pour vérifier ce résultat. Il suffit, en principe, de prendre des animaux de taille variée capturés dans la nature, de compter le nombre des articles constituant, pour chaque taille, le rayon que l'on a choisi, et de comparer ensuite ces nombres entre eux. Les ramifications, lorsqu'elles existent, peuvent servir de

point de repère pour faciliter le dénombrement. J'ai ainsi pu évaluer approximativement le nombre moyen d'articles entiers qui constituent

Tableau n°3

Nombre d'articles composant les rayons médians
de la nageoire caudale à différents stades
chez *Pygosteus pungitius* (L.).

Taille en mm.	Nombre moyen d'articles	Taille en mm.	Nombre moyen d'articles
27	12	35	15
28	13	36	15
29	13	37	16
30	13	38	16
31	14	39	17
32	14	40	18
33	15	41	18
34	15	42	19

les rayons médians de la nageoire caudale à différents stades chez *Pygosteus pungitius* (voir tableau n° 3 et fig. 36). Les résultats mon-



FIG. 36. — Variation du nombre d'articles composant les rayons médians de la nageoire caudale, avec l'âge, chez *Pygosteus pungitius* (L.).

trent, une fois de plus, qu'il y a bien formation d'articles nouveaux dans la région terminale de la nageoire. Cette formation d'articles nouveaux ne se fait donc pas uniquement chez le jeune, mais aussi chez l'adulte ; elle est simplement un peu moins rapide chez l'adulte que chez l'alevin. La durée de croissance des nageoires semble à peu près illimitée chez les Téléostéens.



FIG. 37. — Variation de l'ossification le long des rayons mous et épineux de la nageoire pectorale d'*Ameiurus nebulosus* (Les.) (d'après J. BUSER et M. BLANC, 1949).

E = rayon épineux ; M = rayons mous. En abscisse : 1 = partie basilaire ; 2 = partie médiane ; 3 = partie terminale. En ordonnée : milligrammes de phosphore par gramme de tissu.

Avec J. BUSER, nous avons par ailleurs (1949) déterminé les variations du degré d'ossification le long des rayons des nageoires pectorales d'*Ameiurus nebulosus* (fig. 37), en prenant comme indice de minéralisation le rapport de la quantité de phosphore contenu dans la zone examinée et de la quantité d'azote dosée dans la même zone (rapport $\frac{P}{N}$ préconisé par ROCHE, 1936 et 1938). Les détails de ces mesures biochimiques figurent dans une note faite en collaboration avec J. BUSER et à laquelle je renvoie pour plus ample explication. Je signalerai simplement que nous avons constaté :

a) que les articles basilaires sont très ossifiés ;

b) que les articles médians (c'est-à-dire situés entre les articles basilaires et la première bifurcation) sont moins ossifiés que les articles basilaires, cette diminution se faisant régulièrement depuis l'article basal ;

c) que les articles terminaux (situés au delà de la première bifurcation) sont très peu minéralisés et qu'il existe une discontinuité nette et brusque entre cette région et la précédente, discontinuité due certainement à une différence dans la nature du tissu.

Par conséquent, les articles les plus ossifiés se trouvent dans la région basilaire et le degré d'ossification diminue de la base vers l'extrémité distale. Ce résultat d'ordre biochimique concorde bien avec le résultat de mes observations morphologiques et celui de mes numérations d'articles. L'article basal est à la fois le plus ossifié et le plus ancien, tandis que les articles suivants ont été formés ultérieurement et sont de moins en moins ossifiés.

Quant à la différence de nature entre les articles de la région terminale et ceux qui les précèdent, elle correspond fort probablement au fait que l'on trouve chez l'adulte du tissu ostéoïde dans les parties encore jeunes des rayons mous, notamment dans la région distale, alors que le reste du rayon est constitué par du tissu osseux normal, comme je l'ai montré au cours du chapitre IV. En effet cette différence de structure histologique coïncide juste avec la discontinuité chimique. C'est d'ailleurs dans cette zone également que M. PRENANT (1936) a décrit une structure transversale primaire qui ne se retrouve pas dans le reste de la nageoire.

Ainsi la biochimie et la morphologie confirment mes conceptions sur la signification du tissu ostéoïde des Poissons Téléostéens.

2°) *Longueur des articles.*

Ces longueurs ont été appréciées à l'aide d'un micromètre oculaire et en fonction de l'âge des sujets, cet âge nous étant indiqué approximativement par la longueur du corps, prise depuis l'extrémité du museau jusqu'à la naissance de la nageoire caudale. Les résultats obtenus confirment et complètent ceux publiés par M. PRENANT sur *Gobius minutus* et sur *Crenilabrus melops* (1936, 1937).

Les articles des régions moyenne et terminale ont bien une longueur fixe et déterminée dès leur formation. Cette longueur varie, bien entendu, avec l'espèce étudiée (1). La plupart du temps, cette longueur est la même pour les articles des différentes nageoires de l'espèce considérée, mais toutefois chez certaines espèces, la longueur de ces articles varie également suivant les nageoires examinées. Par exemple, chez *Blennius pholis*, j'ai pu constater que les articles médians et terminaux des nageoires pectorales ont une longueur égale à 0,255 mm alors que ceux de la nageoire caudale ont une longueur de 0,300 mm.

(1) 0,405 mm chez *Cottus bubalis* — 0,270 mm chez *Gobius paganellus* — 0,375 mm chez *Phoxinus phoxinus* — 0,210 mm chez *Cobitis barbatula*, etc...

Par contre, l'article basal, qui apparaît le premier au cours du développement, n'a pas une taille déterminée et il est toujours plus long que les autres articles. Je dois signaler d'ailleurs qu'à sa formation, lorsqu'apparaît l'articulation qui va le limiter distalement et le séparer des articles à venir, cet article basilaire est déjà beaucoup plus grand que ne le seront les autres articles lorsqu'ils se formeront. Cette observation est facile à vérifier sur des alevins de *Salmo irideus* après imprégnation argentique et montage à la glycérine. La différence ne fera que s'accroître par la suite au cours du développement. De plus, non seulement cet article basal n'a pas la même longueur chez des individus de la même espèce et d'âges différents, mais sa taille

Tableau n°4

* Croissance en longueur de l'article basilaire
chez Cottus bubalis Euph.
(9ème rayon - pectorale gauche)

Taille en mm.	Longueur moyenne de l'article basilaire (en mm.)
59	5,25
64	5,90
71	6,40
76	6,65
82	7,05
85	7,25
90	7,50
94	7,75
99	8,10
107	8,55
115	8,80

varie également suivant les différents rayons d'une même nageoire. C'est pourquoi, si l'on veut comparer la taille de l'article basal à des âges différents, il est nécessaire d'effectuer les mesures sur les mêmes rayons dans les différents cas (le neuvième rayon de la nageoire caudale par exemple).

J'ai effectué un certain nombre de mesures concernant la longueur de l'article basilaire de plusieurs espèces. Ces mesures portent de préférence sur des espèces marines, dont j'ai pu me procurer un assez grand nombre d'individus à des âges différents au cours de mes séjours dans les Stations de Zoologie maritimes. Ces observations m'ont permis non seulement de vérifier que la taille de l'article basilaire des lépidotriches articulés varie avec l'âge, mais aussi que l'importance de cette croissance est variable avec les espèces, et parfois même avec les différentes périodes de la vie chez une même espèce (voir tableaux n^{os} 4, 5, 6 et fig. 38, 39, 40).

Tableau n^o5

Croissance en longueur de l'article basilaire

chez *Gobius paganellus* L.

(9eme rayon - pectorale droite)

Taille en mm.	Longueur moyenne de l'article basilaire (en mm.)
29	2
34	2,15
40	2,25
47	2,35
51	2,40
57	2,60
60	2,75
66	3
69	3,15
77	3,55
80	3,75

Chez *Cottus bubalis*, la croissance de l'article basilaire est très importante (5,25 mm au stade de 59 mm — 8,80 mm au stade de 115 mm) et se fait de façon ininterrompue. Chez *Gobius paganellus*, la croissance de l'article basilaire est moyennement importante seulement (2 mm au stade de 29 mm — 3,75 mm au stade de 80 mm). Chez *Blennius pholis*, la croissance basilaire est très peu importante au début, puis brusquement devient forte à un certain âge (1,55 mm au

stade de 40 mm — 1,75 mm au stade de 55 mm — 3,30 mm au stade de 79 mm).

Chez toutes ces espèces, la croissance de l'article basilaire est moins importante que dans le cas du *Gobius minutus* étudié par M. PRENANT, mais elle existe. Par contre, je n'ai jamais constaté sur mon matériel le moindre allongement des articles immédiatement suivants, alors que M. PRENANT a observé sur ses *Gobius* une légère croissance jusqu'au cinquième article compris. Chez *Gobius minutus*, la croissance basilaire de la nageoire semble donc poussée à l'extrême.

Tableau n°6

Groissance en longueur de l'article basilaire

chez *Blennius pholis* L.

(9ème rayon - pectorale droite)

Taille en mm.	Longueur moyenne de l'article basilaire (en mm.)
40	1,55
46	1,65
52	1,70
55	1,75
61	2,10
65	2,40
70	2,70
73	2,85
79	3,30

Par conséquent, il y a donc, en plus du mode de croissance par formation de nouveaux articles terminaux, un second mode de croissance qui consiste en un allongement plus ou moins grand et plus ou moins durable de l'article basilaire (et exceptionnellement des quelques articles suivants comme c'est le cas chez *Gobius minutus* d'après M. PRENANT).

Il serait intéressant de savoir s'il y a toujours un double mode de croissance en longueur dans les nageoires de Téléostéens, ou s'il peut se trouver que chez certaines espèces l'un des deux modes soit constamment seul, la croissance en longueur se faisant alors uniquement d'une seule façon pendant toute la vie. Notons tout de suite que je

n'ai jamais observé d'exemple où la croissance basilaire soit nulle toute la vie et où l'article basal soit de la même taille que les articles suivants. Par contre, le cas contraire semble exister chez les Syngnathidés.

En effet, dans les nageoires dorsales et pectorales des Syngnathidés (*Syngnathus acus*, *Nerophis lumbriciformis*, *Hippocampus guttulatus*, etc.), on peut observer des rayons sur lesquels aucune trace de segmentation n'est visible alors que dans la nageoire caudale les rayons mous sont absolument normaux. Ces rayons insegmentés sont

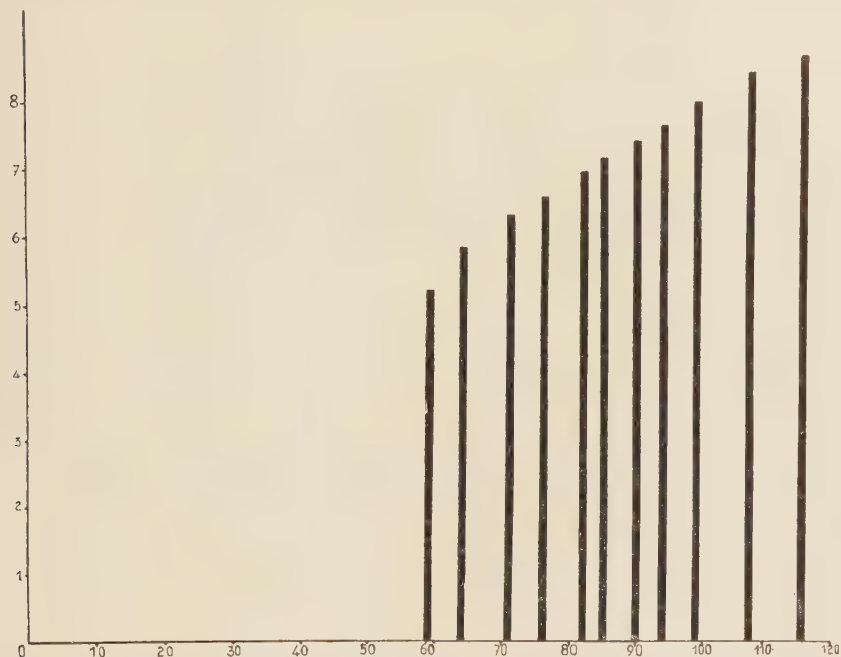


FIG. 38. — Diagramme montrant la croissance en longueur d'un article basilaire chez *Cottus bubalis* Euph. (9^e rayon, pectorale gauche).

En abscisse : Taille des individus exprimée en mm. En ordonnée : Longueur moyenne de l'article basilaire exprimée en mm.

cependant très peu rigides malgré cette absence d'articulations. Ils sont formés, comme les rayons mous normaux, de deux gouttières parallèles et symétriques. Ils ont une forme de massue, c'est-à-dire qu'ils vont en s'élargissant de la base vers l'extrémité. Celle-ci ne présente pas de bifurcation, mais possède des actinotriches. En se basant sur l'absence des articulations, on pourrait évidemment être tenté de ranger ces rayons parmi les rayons épineux. Mais je crois plutôt que l'interprétation suggérée par M. PRENANT (1936, 1937), et qui dit que ce sont peut-être des rayons mous réduits à leurs articles basilaires, est la bonne. Ils ressemblent en effet beaucoup aux articles basilaires des rayons mous de la nageoire caudale, et d'autre part leur forme en

massue, leur faible consistance, et le fait qu'ils sont formés de deux gouttières symétriques, les éloignent passablement des rayons épineux. On a donc probablement affaire avec ce groupe à un type de nageoire

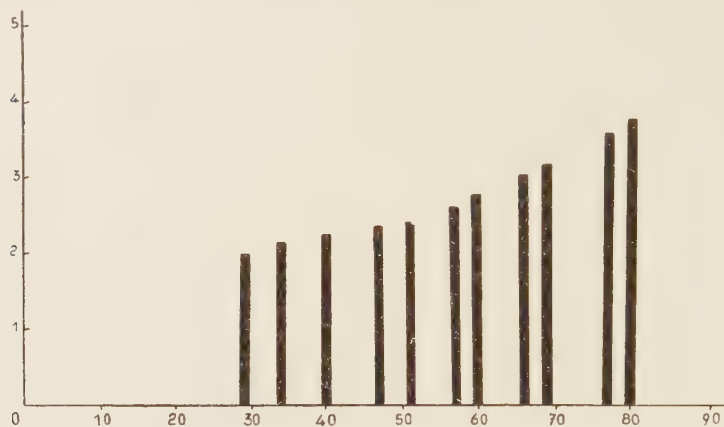


FIG. 39. — Diagramme montrant la croissance en longueur d'un article basilaire chez *Gobius paganellus* L. (9^e rayon, pectorale droite).

En abscisse : Taille des individus exprimée en mm. En ordonnée : Longueur moyenne de l'article basilaire exprimée en mm.

où la croissance terminale est absolument nulle, la croissance en longueur de la nageoire se faisant alors uniquement par croissance des

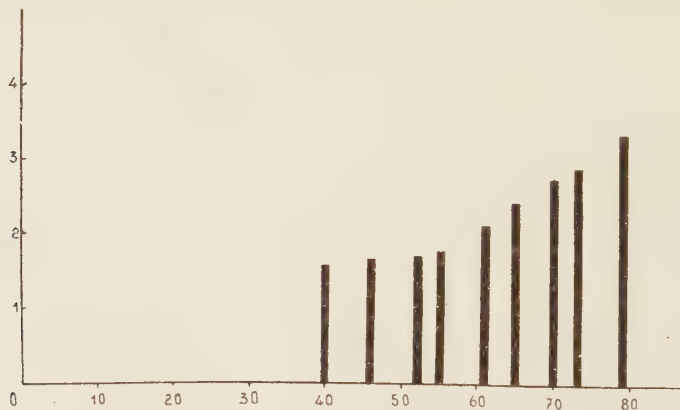


FIG. 40. — Diagramme montrant la croissance en longueur d'un article basilaire chez *Blennius pholis* L. (9^e rayon, pectorale droite).

En abscisse : Taille des individus exprimée en mm. En ordonnée : Longueur moyenne de l'article basilaire exprimée en mm.

articles basilaires qui, non limités distalement, continueraient leur croissance indéfiniment. Cette hypothèse concorde bien avec l'exis-

tence des actinotriches qui, après avoir constitué, tout au début du développement, la première charpente des nageoires, se trouvent ensuite, à un certain moment, situés à l'extrémité des premiers articles osseux, les articles suivants n'étant pas encore apparus. Ici, les articles suivants n'apparaissent jamais et les actinotriches restent indéfiniment à l'extrémité de l'article basilaire. L'absence de ramification à la partie terminale concorde également avec cette hypothèse, car les articles basilaires normaux ne sont jamais bifurqués.

CROISSANCE EN ÉPAISSEUR.

Indépendamment de la croissance en longueur dont nous venons d'étudier les processus, les lépidotriches articulés présentent également une croissance en épaisseur, croissance qui se traduit par des variations de diamètre et par conséquent de forme.

C'est ainsi que l'article basal de chaque rayon a le plus souvent la forme d'une massue, c'est-à-dire qu'il va en s'élargissant de la base vers l'extrémité distale. Cette forme résulte tout simplement de la croissance en épaisseur. Les parties les plus minces sont évidemment des parties récemment constituées et qui n'ont pas encore subi de croissance en épaisseur ; par contre, la partie la plus anciennement formée est plus épaisse parce qu'elle a subi une certaine croissance en épaisseur depuis sa formation.

Le fait que l'article basilaire n'a pas la même largeur sur toute sa longueur est donc en même temps une nouvelle preuve de l'allongement continu de cet article et sa forme même nous renseigne sur la région où se fait l'allongement, région qui doit évidemment être la moins épaisse, puisque la plus récemment formée, et qui par conséquent doit être la base. Toutes ces observations se complètent bien mutuellement.

Comme on l'a vu plus haut, cet aspect en forme de massue se retrouve dans les rayons insegmentés de certaines nageoires de *Syngnathidés*, et c'est une raison de plus pour penser que ces rayons sont peut-être des articles basilaires non limités distalement par d'autres articles.

Les articles suivants ont, au contraire, à peu près la même largeur sur toute leur longueur. Ceci est normal, puisqu'on a vu plus haut que la longueur de ces articles est fixe et ne varie plus dès que leur formation est terminée ; la croissance en épaisseur qui intervient secondairement peut donc s'exercer de la même façon à tous les niveaux de chaque article.

Ceux qui sont les plus proches de l'article basilaire ont une largeur assez considérable, voisine de celle de la partie distale de l'article basilaire ; ce sont en effet les plus anciennement formés après celui-ci et la croissance en épaisseur a eu le temps de se faire longuement. Par contre, ceux qui sont situés davantage vers la partie distale de la nageoire ont une largeur plus faible, car récemment formés ils n'ont

pas encore subi une croissance en épaisseur bien importante. C'est pourquoi les articles terminaux sont plus étroits que les précédents même lorsqu'il n'existe pas de ramification.

CONCLUSION.

De cet examen rapide sur la croissance des lépidotriches articulés, il résulte :

1°) qu'il y a bien dans les nageoires de Poissons Téléostéens deux modes de croissance en longueur :

a) *un mode de croissance terminale* qui se fait par addition successive de nouveaux articles au bout des anciens, ces nouveaux articles ayant une taille fixe.

b) *un mode de croissance basilaire* qui s'effectue par un allongement plus ou moins marqué de l'article basilaire (et parfois même des articles immédiatement suivants d'après M. PRENANT), cet allongement se faisant par l'extrémité proximale de l'article en question.

2°) que les résultats obtenus ci-dessus concordent bien avec ceux obtenus par examen histologique et que j'ai exposés plus haut à propos de la répartition du tissu ostéoïde et du tissu osseux normal dans les rayons de nageoires en croissance.

Les régions où l'on trouve du tissu ostéoïde chez les espèces dont le squelette est normalement constitué par du tissu osseux vrai sont bien des zones de croissance.

Le but de ce complément au chapitre IV qui était de confirmer la signification et l'interprétation du tissu ostéoïde, exposées plus haut (Chapitre IV) est donc pleinement atteint.

CHAPITRE V.

L'OSTÉOGÉNÈSE RÉPARATRICE.
EXPÉRIMENTATION SUR LES NAGEOIRES.

Pensant que l'étude de l'ostéogénèse expérimentale me permettrait d'éclaircir certains problèmes plus facilement que l'ostéogénèse normale, je me suis livré à diverses expériences. Pour cela, j'ai choisi les rayons de nageoires, d'abord parce que ce sont des os faciles à atteindre et que leur lésion ne cause jamais d'hémorragies importantes, ni de troubles graves, mais aussi parce que ce sont des pièces squelettiques qui se réparent facilement lorsqu'on les ampute.

En effet, chez les Poissons, les capacités de régénération sont assez faibles et beaucoup moins développées que chez les Batraciens qui pourtant sont des animaux plus élevés en organisation. Cependant l'observation courante de Poissons vivant en captivité a montré qu'à la suite d'accidents divers, des fragments de nageoires détruits étaient susceptibles d'être remplacés plus ou moins rapidement. Cette faculté de régénération semble heureuse pour les Poissons, car leurs nageoires, en raison de leur situation saillante, sont très exposées à des destructions partielles. Les nageoires paires et impaires ne sont d'ailleurs pas les seuls organes doués de régénération chez les Poissons. C'est ainsi que l'opercule branchial, les écailles, les barbillons et parfois même la mâchoire inférieure, sont capables de régénérer également, mais moins facilement que les nageoires.

Ces possibilités de régénération ont d'ailleurs été exploitées par d'anciens auteurs qui ont effectué des régénérations expérimentales de nageoires en vue de recherches purement morphologiques et portant généralement sur une seule espèce. Je me suis livré aussi à des expériences d'amputations partielles suivies de régénération mais plutôt dans un but histologique, histochimique et physiologique, et mes recherches ont porté sur le plus grand nombre d'espèces possible afin de pouvoir comparer et généraliser au maximum les résultats obtenus.

**A. Description générale de la régénération
des rayons de nageoires.****1. — TECHNIQUE D'AMPUTATION.**

Je me suis livré au cours de ce travail à deux sortes d'amputations :

a) *des amputations terminales*, où seule la partie terminale est enlevée, ce qui est évidemment la façon la plus simple d'opérer.

b) *des amputations médianes*, qui consistent à découper un volet à l'intérieur de la nageoire de façon à étudier le rôle ou la réparation d'une région bien déterminée de la nageoire, opérations évidemment plus délicates mais plus intéressantes en raison des possibilités de localisation qu'elles offrent.

Les Poissons étant des animaux complètement aquatiques, il n'est pas possible d'opérer avec asepsie, aussi il peut arriver que l'amputation soit suivie d'une inflammation importante, mais ce cas est heureusement assez rare et ne se produit d'ailleurs que chez certaines espèces.

Pour les expériences générales consistant simplement à priver le poisson de la partie distale de ses nageoires, il suffit de sortir l'animal de l'eau, de sectionner la nageoire au niveau préalablement choisi, avec des ciseaux ordinaires, et de remettre rapidement l'animal dans son milieu habituel. Pendant les premières minutes qui suivent, il peut arriver que le sujet ainsi traité soit complètement désorienté et se déplace d'une manière désordonnée et incohérente, mais il se ressaisit rapidement et retrouve bientôt son équilibre et sa stabilité ; il continue dès lors à nager normalement sans paraître gêné par cette ablation.

Pour les amputations en volet médian, le sujet préalablement endormi au chloréto-ne est attaché sur une plaque de liège percée en son centre d'un orifice, lequel est obturé par un petit carreau de verre ; de cette façon, la nageoire intéressée peut être étalée sur le carreau à l'aide d'un peu d'eau et éclairée par en dessous. Pour être précise, l'opération doit être faite sous la loupe binoculaire, à l'aide d'instruments d'ophtalmologie. Il est bon d'humecter l'animal avec un gros coton bien imbibé d'eau pour éviter la dessiccation. Lorsque l'amputation est terminée, le poisson est remis dans de l'eau très courante afin de dissiper l'action de l'anesthésiant.

2. — OBSERVATIONS PRÉLIMINAIRES RELATIVES AU MATÉRIEL UTILISABLE.

Je me suis tout d'abord livré à quelques recherches préliminaires concernant le choix du matériel à utiliser pour cette étude expérimentale.

a) *Choix de l'espèce.*

Toutes les espèces n'étant pas également favorables pour ces expériences, j'ai dû commencer par rechercher quelles étaient les espèces les plus avantageuses pour une telle étude.

En ce qui concerne les Téléostéens d'eau douce, j'ai surtout travaillé sur des Cyprinidés, des Cobitidés, des Siluridés, des Centrarchidés et des Poecilidés. Chez les Cyprinidés, *Rhodeus amarus* s'est toujours montré peu résistant à l'ablation partielle des nageoires et, à chaque tentative, presque tous les représentants de cette espèce sont morts rapidement. Par contre, *Gobio gobio*, *Tinca tinca*, *Phoxinus*

phoxinus et *Gardonus rutilus* se sont révélés beaucoup plus résistants et ne se sont montrés nullement affectés par cette mutilation temporaire ; chez *Gobio gobio* en particulier, la régénération semble même se faire plus vite que chez les autres espèces citées. Enfin, toujours chez les Cyprinidés, signalons que *Carassius auratus* régénère également très bien et très vite ses rayons osseux et convient particulièrement pour les recherches où l'on ne veut pas risquer d'être gêné par la mélanine (recherche histochimique du calcium, des phosphatases, etc...). Chez les Cobitidés, famille très voisine des Cyprinidés, *Cobitis barbatula* constitue également un bon matériel pour l'étude de la régénération osseuse. Chez *Ameiurus nebulosus* (Siluridés), il n'y a pratiquement jamais d'accidents et les nageoires amputées de leur partie distale régénèrent presque toujours, mais cette régénération est relativement assez lente, tout au moins dans les conditions normales. Ce poisson est cependant très avantageux pour sa grande résistance à l'asphyxie et à différents facteurs physiques et pour la facilité avec laquelle il est possible de travailler sur ses glandes endocrines. C'est principalement sur cette espèce, en prenant la régénération des nageoires comme test de l'ostéogénèse, que nous avons pu, avec J. BUSER, nous livrer à une série de recherches sur le déterminisme de l'ossification chez les Téléostéens. Tous les Cyprinodontiformes que j'ai possédés en captivité, c'est-à-dire *Gambusia affinis*, *Lebistes reticulatus* et *Goodea atripinnis*, m'ont également donné satisfaction au point de vue régénération. Enfin, pour en finir avec les Téléostéens d'eau douce, signalons qu'*Eupomotis gibbosus* (Centrarchidés) régénère assez facilement ses lépidotriches, mais il ne faut surtout pas mettre plusieurs individus ensemble dans le même bac, car leur caractère querelleur donne lieu constamment à des batailles d'où les nageoires ressortent à chaque fois plus ou moins déchirées et par conséquent inutilisables pour des observations suivies.

En ce qui concerne les Téléostéens marins (1), mes essais ont porté sur des Labridés, des Blenniidés, des Gobiidés, des Cottidés, des Pomacentridés et des Serranidés. Les résultats obtenus sont, là aussi, loin d'être égaux. *Blennius pholis* par exemple, qui est pourtant un animal très résistant à bien d'autres égards, supporte difficilement l'ablation partielle des nageoires et souvent il se produit chez cette espèce, peu après l'amputation, une inflammation plus ou moins accentuée qui aboutit généralement à la mort du sujet. Chez *Cottus bubalis*, la difficulté est encore plus grande et je n'ai jamais pu obtenir le moindre régénérat, les nageoires s'effilochant et se nécrosant dans les jours qui suivent immédiatement l'amputation. En ce qui concerne les Gobiidés, les deux espèces sur lesquelles j'ai expérimenté se comportent très différemment : chez *Gobius paganellus*, la régénération s'obtient facilement et à peu près à tout coup, alors que chez *Gobius minutus* il est très difficile d'obtenir des régénérats en série, la plu-

(1) Expériences effectuées soit à la Station Biologique de Roscoff (Finistère), soit à la Station Zoologique de Villefranche-sur-Mer (Alpes-Maritimes).

part des sujets mourant quelques jours après l'expérience. Chez *Serranus scriba* (Serranidés) et chez *Heliastes chromis* (Pomacentridés), la régénération osseuse se fait bien. Mais c'est encore chez les Labridés que les régénérats sont le plus facile à obtenir, que ce soit chez *Coris julis*, *Labrus berggylta*, *Crenilabrus melops*, *Cr. ocellatus* ou *Cr. rostratus*, et je me suis beaucoup servi de cette famille pour étudier l'histologie de la régénération osseuse.

b) Importance de l'âge.

En principe la régénération des nageoires s'effectue toujours beaucoup plus vite chez le jeune que chez l'adulte. SCOTT par exemple l'a constaté sur *Fundulus heteroclitus* (1907, 1909). J. BUSER vient également de vérifier ce fait chez *Gambusia holbrooki* où la régénération complète demande dix à quinze jours chez les jeunes et vingt à vingt-cinq jours chez les adultes. J'ai été à même de vérifier souvent cette règle. C'est ainsi que chez *Gobio gobio*, la régénération a lieu très facilement sur des animaux de 4 cm de long environ, qu'elle a lieu plus

Tableau n°7

Vitesse comparée de la régénération
chez deux *Cobitis barbatula* L., de taille différente

Dates	4cms	6cms
amputation le 13 avril	--	--
27 avril (14ème jour)	--	--
4 mai (21ème jour)	4 articles	--
11 mai (28ème jour)	6 articles	5 articles
18 mai (35ème jour)	9 articles	7 articles
25 mai (42ème jour)	12 articles	9 articles
1er juin (49ème jour)	15 articles	11 articles
8 juin (56ème jour)	16 articles	13 articles
15 juin (63ème jour)	16 articles	14 articles

difficilement chez des Goujons de 7 à 8 cm et qu'elle est impossible à obtenir chez des Goujons de 11 cm et plus. De même, si l'on prend deux *Cobitis barbatula* d'âge différent, l'un mesurant 4 cm au moment de l'amputation et l'autre 6 cm, mais placés tous deux dans les mêmes conditions, on peut constater l'existence d'un décalage important dans la vitesse de régénération des lépidotriches (voir tableau n° 7), les pec-

torales, de taille évidemment différentes dans les deux cas, ayant été sectionnées exactement à la moitié pour rendre les résultats comparables entre eux.

Cependant, je tiens à signaler une légère exception à cette règle : chez *Labrus berggylta* et *Crenilabrus melops*, la régénération des rayons osseux des nageoires s'obtient aussi facilement chez les individus adultes que chez les jeunes et même souvent mieux que chez les jeunes, ce que je n'ai constaté dans aucune autre famille. Or ceci est particulièrement avantageux car les Labridés adultes sont des Poissons de taille déjà importante et pour une étude histologique de ce genre on a intérêt à avoir des régénérats assez épais. C'est pourquoi, sur les conseils de M. PRENANT qui, en 1938, avait déjà utilisé ce même matériel, je me suis principalement servi des nageoires de Labres pour étudier la façon dont se réparent les rayons osseux et j'ai utilisé les autres espèces simplement pour comparer et généraliser les résultats ainsi obtenus.

c) Choix de la nageoire et du type de rayon.

Chez un même individu, toutes les nageoires ne régénèrent pas avec la même rapidité. Il est donc intéressant, pour économiser du temps, de travailler de préférence sur celles dont la régénération est la

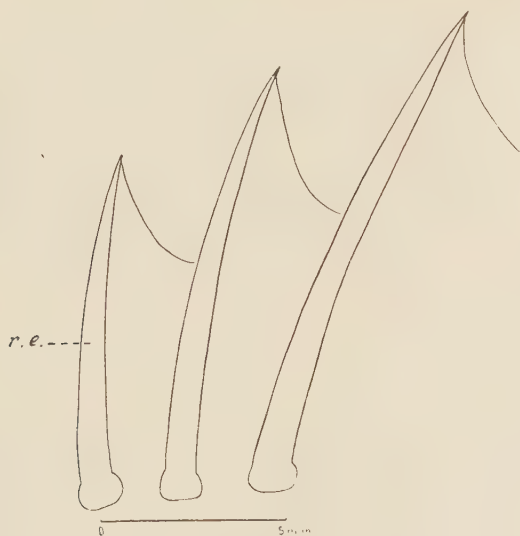


FIG. 41. — Rayons épineux normaux.

Partie antérieure de la nageoire anale d'*Eupomotis gibbosus* L.

r.e. = rayons épineux.

plus rapide. Rappelons tout d'abord, qu'ainsi que SCOTT l'a montré en 1907, la section simultanée de plusieurs nageoires sur un même individu ne modifie en rien la régénération de chacune d'elles ; chaque

nageoire régénère comme si elle était seule en cause, indépendamment des autres, et ne subit que l'influence des conditions locales qui sont réalisées sur sa propre section. Il est donc possible de se livrer à des essais de régénération sur les différentes nageoires d'un même individu. L'ordre dans lequel les différentes nageoires (sectionnées bien entendu à un niveau comparable) régénèrent, semble être toujours à peu près le même. Ce sont les nageoires pectorales qui régénèrent le plus rapidement ; elles sont suivies par la nageoire caudale, puis par la nageoire dorsale ; les nageoires pelviennes et la nageoire anale régénèrent assez lentement et à peu près dans le même temps. Des mesures précises relatives à cette question pourront être consultées dans la thèse de J. BUSER.

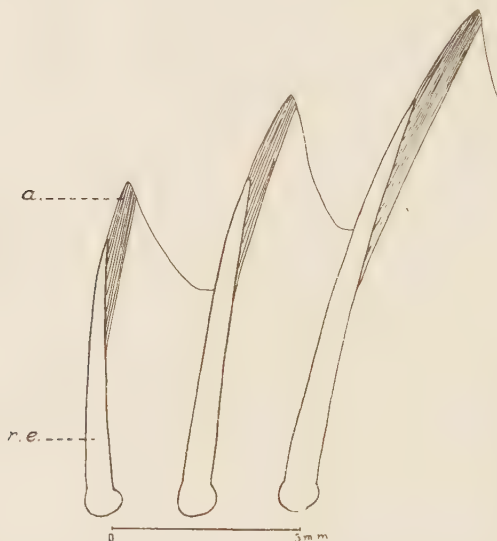


FIG. 42. — Rayons épineux munis d'actinotriches.

Partie antérieure de la nageoire anale de *Crenilabrus melops* L.

a. = actinotriches ; r.e. = rayons épineux.

Il est bon de noter en passant que les nageoires pectorales ont un rôle locomoteur peu important. Donc l'idée de BANZ (1910) disant que l'importance du rôle joué par la nageoire dans le déplacement de l'animal a une influence primordiale sur la vitesse de régénération me semble inexacte, la nageoire qui a le plus grand rôle dans la natation chez les Poissons étant, d'après OSBURN (1906), la nageoire caudale, c'est-à-dire celle qui vient en seconde place au point de vue vitesse de régénération.

Nous savons que chez un certain nombre de Poissons (notamment chez tous ceux qui font partie de l'ancien groupe des Acanthoptérygiens) les nageoires présentent deux sortes de rayons : des rayons

mous et des rayons durs. Il ne suffit donc pas de choisir la nageoire sur laquelle on veut expérimenter, mais il faut aussi dans ce cas choisir le type de rayon. Or la plupart des expériences qui m'ont servi pour

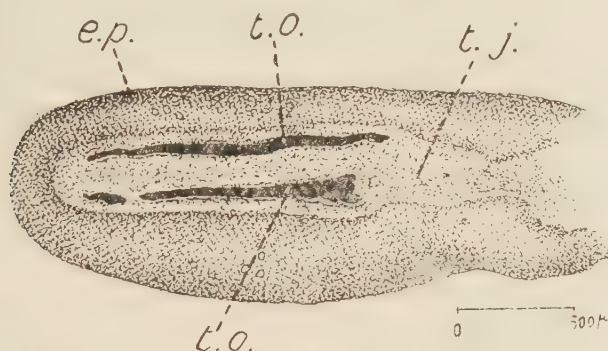


FIG. 43.



FIG. 44.

FIG. 43 et 44. — Deux aspects successifs de la régénération de l'épine de la nageoire pectorale d'*Ameiurus nebulosus* (Les.). Apparition de deux travées osseuses symétriques comme dans le cas d'un rayon mou articulé.

e.p. = épiderme ; t.j. = tissu conjonctif ; t.o. = tissu osseux.

l'étude des processus intimes de l'ostéogénèse réparatrice portent sur des rayons mous, c'est-à-dire sur des lépidotriches articulés. En effet, les rayons durs qui constituent d'ailleurs un matériel fort hétérogène, ne sont généralement pas capables de régénérer sauf dans certains cas tels que celui des épines de Labridés ou de Siluridés. Celles-ci ne sont d'ailleurs pas homologues des rayons épineux habituels (voir fig. 41,

42, 43 et 44), ainsi que je l'ai montré par ailleurs (M. BLANC, 1950) et elles ne régénèrent même que dans certaines conditions bien précises (voir chapitre VI).

d) *Importance du niveau de la section et position des rayons.*

Dans une même nageoire, il y a des variations de la vitesse de régénération suivant la région où a été faite la section. C'est que, comme l'a montré MORGAN, le niveau de la section a une grosse importance. Dans le cas d'une amputation terminale, le développement du régénérat est d'autant plus rapide que l'amputation est plus proche de la base ; autrement dit la régénération se fait d'autant plus vite qu'il

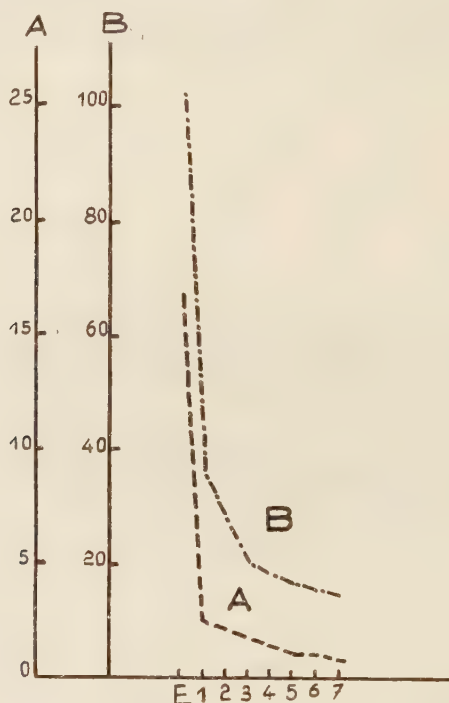


FIG. 45. — Variations du poids sec (courbe A) et de la teneur en phosphore (courbe B) des différents rayons de la nageoire pectorale d'*Ameiurus nebulosus* (Les.).

(d'après J. BUSER et M. BLANC, 1949).

En abscisse : E = rayon épineux ; 1, 2, 3, 4, 5, 6 et 7 = différents rayons mous. En ordonnée : Courbe A : poids sec en milligrammes ; Courbe B : quantité de phosphore ramenée à 1 g de tissu sec et exprimée en milligrammes.

y a eu une plus grande longueur de nageoire enlevée. Notons aussi qu'en raison de la croissance en épaisseur, le diamètre des rayons osseux est plus grand vers la base que vers l'extrémité libre et que de ce fait, plus la section a lieu vers la base, plus la surface osseuse inté-

ressée par la section est large, ce qui est peut-être propice à une régénération plus facile et plus rapide. Enfin, lorsqu'on enlève une nageoire de façon qu'il n'en reste rien et que la surface osseuse sectionnée soit par conséquent nulle, la régénération ne se produit pas.

En tout cas, ceci implique que, si l'on veut comparer la vitesse de régénération de différentes nageoires dont les dimensions peuvent être fort différentes, il faut s'arranger pour que le rapport entre la partie supprimée et la partie restante soit le même dans tous les cas. Cette condition se trouve réalisée lorsque l'on sectionne toutes les nageoires à comparer à leur moitié ou à leur tiers antérieur par exemple (1).

Enfin, signalons que l'ordre dans lequel sont placés les rayons le long d'une section transversale rectiligne influe légèrement sur la vitesse. Nous avons montré en effet avec J. BUSER (1949) dans la nageoire pectorale d'*Ameiurus nebulosus* que ce sont les rayons situés les plus près de l'épine qui régénèrent le plus vite et que la vitesse de régénération diminue au fur et à mesure que l'on s'éloigne vers l'autre bord de la nageoire (ceci n'étant bien entendu pas valable pour l'épine elle-même qui, lorsqu'elle régénère, le fait très lentement et toujours beaucoup plus lentement que n'importe lequel des rayons mous). La vitesse de l'ostéogénèse réparatrice varie donc avec le degré d'ossification des rayons, car en allant du premier rayon mou jusqu'au bord opposé de la nageoire, non seulement nous avons affaire à des rayons de plus en plus petits, mais aussi à des rayons qui, à poids égal, sont de moins en moins riches en phosphore et par conséquent de moins en moins ossifiés (fig. 45). D'où l'existence d'un véritable gradient transversal.

3. — DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE DE LA RÉGÉNÉRATION.

Pour cette partie de mon travail, je me suis efforcé de faire mes observations sur des animaux vivants, sans les sacrifier. Pour cela, il faut placer régulièrement l'animal dans une petite cuve de verre à fond plat et observer la zone intéressante des nageoires en régénération, à l'aide d'une loupe binoculaire. Lorsque l'observation est terminée, on remet l'animal dans l'eau courante jusqu'au prochain examen. Avec cette méthode d'observation, on peut suivre régulièrement les progrès qui s'accomplissent dans la nageoire sans avoir à prélever chaque fois l'organe en question, ce qui économise les animaux et introduit un intérêt supplémentaire, celui de suivre le processus jusqu'au bout sur le même animal. Cette méthode d'observation ne peut évidemment pas se pratiquer sur n'importe quel Poisson ; il faut tenir compte non seulement du comportement habituel de l'espèce étudiée, mais également

(1) C'est à la suite de ces expériences que J. BUSER a été amenée à étudier les variations en fonction du temps du rapport entre la longueur L de la nageoire avant l'amputation et la longueur l de celle-ci mesurée à divers moments au cours de la régénération, c'est-à-dire le rapport $\frac{l}{L}$.

de la taille des sujets, ainsi que de la transparence et de la pigmentation de leurs nageoires. Pour ces différentes raisons, les observations qui vont suivre ont été faites principalement sur des Cyprinidés tels que *Gobio gobio* ou *Phoxinus phoxinus* et sur de jeunes Labridés tels que *Coris julis*.

a) *Cas des amputations terminales.*

L'opération pratiquée de la façon expliquée au début de ce chapitre est presque toujours suivie d'une légère hémorragie par suite de la section des vaisseaux dont le trajet se trouve situé entre les deux moitiés symétriques des rayons, mais cette hémorragie ne dure jamais longtemps. On constate en même temps une certaine rétraction des téguments et une légère dépigmentation des moignons osseux au voisinage de la section. Il se fait ensuite une cicatrisation de la plaie. Cette cicatrisation, assez rapide, est évidemment indispensable pour la régénération car lorsqu'elle ne se fait pas la régénération ne peut avoir lieu. Mais d'après certains auteurs il ne faut cependant pas qu'elle se produise trop rapidement car une cicatrisation trop rapide et trop complète peut empêcher la régénération de se faire. Je signalerai à l'appui de cette idée que des applications locales de pommade à base de pénicilline, en empêchant l'inflammation, ont évidemment facilité la cicatrisation, mais ont en même temps retardé la régénération osseuse, probablement par suite d'une trop bonne guérison de la plaie.

Une fois la plaie cicatrisée, il se forme à l'extrémité du moignon une petite membrane blanche d'abord étroite mais bien visible grâce à l'absence complète de pigment, ce qui la fait contraster avec la partie non coupée de la nageoire laquelle est toujours plus ou moins pigmentée. Cet état dure quelques temps, puis la zone blanche commence à montrer des traînées plus réfringentes dans le prolongement des anciens lépidotriches. Ces traînées s'accusent de plus en plus et se différencient du reste de la membrane. Celle-ci semble d'ailleurs croître plus vite aux extrémités des dites traînées car son bord marginal présente des boursofflures aux endroits où se trouveront justement par la suite les extrémités des rayons régénérés. Dans les parties réfringentes se reforment alors les faisceaux d'actinotriches qui avaient été enlevés complètement lors de l'amputation. Nous verrons plus loin, à l'aide de techniques histologiques, comment réapparaissent ces actinotriches. En même temps, les lépidotriches finissent de se reconstituer et il se forme successivement un article, puis deux, puis trois et ainsi de suite jusqu'à ce que la nageoire ait repris à peu près ses dimensions primitives, avec la différence que les premiers articles se forment beaucoup plus rapidement que les suivants.

En somme, le mécanisme est très semblable à celui de la croissance normale, quoique se faisant beaucoup plus vite que celle-ci, ainsi qu'on peut en juger en opérant simplement sur l'une des deux nageoires pectorales et en laissant l'autre comme témoin chez un animal jeune ; celle dont l'extrémité distale a été sectionnée rattrape très vite celle qui n'a fait que croître normalement.

La vitesse de régénération varie d'ailleurs au cours du phénomène. Au début, après une période d'attente, le régénérat se forme lentement et commence à croître. Puis cette croissance devient brusquement très rapide. Par la suite, la vitesse diminue mais reste encore assez grande. Enfin la croissance du régénérat devient très lente et finit même par cesser ou tout au moins par faire place à la croissance normale de la nageoire. Les courbes de régénération des nageoires sont, comme l'a montré BEIGEL, des courbes en S. Mais je ne pense pas que ces courbes soient très significatives, tout au moins en ce qui concerne leur début, car elles ne tiennent pas compte des remaniements osseux et des mutations calciques qui jouent un rôle important dans la régénération.

Les lépidotriches régénérés sont très semblables aux anciens mais ne sont pas toujours dans leur prolongement exact ; il y a assez souvent un angle entre la direction des anciens lépidotriches et celle des lépidotriches régénérés. La direction des articles régénérés semble dépendre de la direction selon laquelle la section de la nageoire a été pratiquée. La loi de BARFURTH, établie à la suite d'expériences portant sur la queue des Amphibiens et les bras des Astéries, et disant que la croissance d'un organe en régénération s'effectue perpendiculairement à la surface de la section, semble généralement respectée dans le cas des nageoires des Poissons. Souvent, les lépidotriches sont, en effet, au moins au début de leur régénération, à peu près perpendiculaires à la ligne de section ; la différence s'atténue d'ailleurs par la suite, car seuls les premiers articles sont ainsi disposés ; il y a un *redressement secondaire* qui fait que les articles suivants se forment à peu près dans la direction suivie par l'ancien rayon ; c'est pourquoi les rayons régénérés présentent très souvent deux courbures de sens inverse. Mais il y a tout de même des exceptions à cette loi. J'ai rencontré des cas où le régénérat n'était pas perpendiculaire à la section et même des cas où le régénérat, au lieu de partir de la section, prenait naissance sur le côté du rayon, latéralement, avec une direction fort différente de la direction habituelle.

Les irrégularités et les brisures causées par la section des os, restent visibles très longtemps à l'extrémité des lépidotriches coupés. D'ailleurs il y a, pendant quelques temps, une discontinuité très nette entre les deux extrémités en cause. Au début le nouveau lépidotriche semble même coiffer l'ancien, car il est à ce moment là généralement plus large que lui. Un peu plus tard, lorsque la partie néoformée a été suffisamment modifiée, la discontinuité s'atténue et finit par disparaître.

Un fait très remarquable est que tous les articles régénérés ont la même longueur et que, de plus, cette longueur est celle des articles des anciens lépidotriches (à l'exception, bien entendu, des articles basilaires). Ceci est donc à rapprocher de ce que nous avons vu (complément au Chapitre IV) sur la croissance normale des rayons articulés des nageoires de Téléostéens.

Quant aux bifurcations, lorsqu'il en existait dans la partie supprimée, elles reparaissent sur la partie régénérée, et se trouvent toujours

placées sur les mêmes rayons qu'auparavant. Il n'en apparaît pas en supplément au cours de la régénération. Elles peuvent tout au plus être décalées de quelques articles par rapport aux anciennes. En effet, si l'on fait une section juste après la formation d'une bifurcation, alors que les deux branches ne sont pas encore bien séparées, le régénérat qui se forme est unique et vient recouvrir à la fois les extrémités des deux branches sectionnées et c'est sur le régénérat unique ainsi formé que se reconstitue un peu plus haut la bifurcation. De même lorsque sur des rayons osseux fraîchement amputés de leur extrémité, on pratique une petite déchirure perpendiculaire à la section, afin de partager le moignon en deux branches avec l'espoir que chaque branche régénérera pour son propre compte, la séparation artificielle ne se retrouve pas dans le régénérat. On ne peut pas créer de bifurcations supplémentaires par cette méthode.

La pratique des amputations terminales nous ayant permis de décrire l'aspect général du processus de régénération, abordons maintenant la question des amputations médianes qui vont nous permettre de faire des observations plus précises sur certains points.

b) *Cas des amputations médianes.*

A la suite des sections en volet pratiquées dans la nageoire selon la technique indiquée au début du chapitre, un ou plusieurs rayons se trouvent privés de quelques-uns de leurs articles médians et réduits par conséquent à deux fragments : un fragment basal et un fragment distal, isolés l'un de l'autre par la perforation.

Très vite il se fait une régularisation des contours de la blessure. On constate à cet effet une légère prolifération de la peau sur les bords de la section, la régression de certains lambeaux trop saillants et l'arrondissement des angles du volet. En même temps, on peut constater une dépigmentation très nette des extrémités de rayons situées auprès des sections.

Ensuite il se fait un blastème de régénération et la peau, par prolifération plus ou moins rapide suivant les espèces, se met à repousser pour réduire de plus en plus la surface du volet jusqu'à obturation complète de celui-ci. Mais cette prolifération des téguments n'est pas égale sur les différents bords du volet ; sur le bord distal et les bords latéraux elle est assez faible et ne dure que peu de temps ; par contre, sur le bord proximal elle est très importante et dure jusqu'à la fin du processus de fermeture. Le bord proximal est ainsi repoussé peu à peu, l'orifice devient de plus en plus petit et finit par disparaître complètement.

La circulation sanguine dans les nageoires de Poissons se fait par l'intermédiaire de vaisseaux qui normalement longent très exactement les rayons osseux. Or, du fait de l'amputation de la région moyenne des rayons intéressés par l'expérience, la circulation se trouve interrompue le long de ces rayons. Il se produit donc une légère hémorragie au moment de l'amputation ; cette hémorragie est toujours plus forte du côté proximal que du côté distal. La façon dont se rétablit la cir-

culatation sanguine est intéressante à étudier ; on peut l'observer très bien par transparence sur l'animal vivant. Il se fait rapidement un raccord entre le vaisseau afférent et le vaisseau efférent à l'extrémité de chaque fragment basal. Cela n'alimente évidemment pas les fragments distaux, isolés de leur base ; mais la circulation se rétablit pourtant chez eux également grâce à la formation d'anastomoses transversales entre les vaisseaux de ces fragments et ceux des rayons voisins non intéressés par l'amputation et restés en rapport avec leur partie basale. Ces anastomoses transversales permettent donc le rétablissement de la circulation dans les fragments distaux, mais aux dépens des rayons voisins. Si on essaye de sectionner ces anastomoses sanguines, il s'en reforme d'autres.

Lorsque la fermeture de l'orifice pratiqué dans la nageoire est réalisée et que la circulation se trouve rétablie dans les deux fragments osseux de la façon que nous venons de voir, on assiste alors à la régénération du fragment de rayon qui avait été enlevé. On constate d'abord la formation, à partir de la section basale, d'une bande sombre qui s'étend peu à peu sur l'emplacement du futur rayon ; cette trainée plus sombre correspond sans doute à l'accumulation cellulaire sous-épidermique qui précède la formation de l'os. En même temps, on assiste dans la même région à la formation de vaisseaux sanguins qui proviennent de la prolifération des vaisseaux du fragment basal ; ces nouveaux vaisseaux en forme d'anse, gagnent petit à petit du terrain en direction distale ; ils finiront d'ailleurs par venir rejoindre les vaisseaux du fragment distal, mais seulement lorsque le rayon osseux sera complètement reformé. Lorsque la bande sombre est constituée, l'os fait son apparition. Dans tous les cas observés, la régénération se fait à partir du fragment basal du rayon ; je n'ai jamais observé de régénération osseuse à partir du fragment distal. Il semble donc que la régénération de l'os ne peut se faire que dans le sens de la croissance normale du rayon. Les articles se forment alors très rapidement à la suite les uns des autres ; leurs limites d'abord peu apparentes, s'accroissent fortement par la suite ; quant à leur taille, elle est égale à celle des autres articles non intéressés par l'expérience. La pigmentation réapparaît alors sous forme d'une rangée de mélanocytes de chaque côté du rayon. Dans les cas normaux, la partie moyenne du rayon ainsi reformée vient se souder au fragment distal, rétablissant ainsi la continuité osseuse. A ce moment, la continuité de la circulation sanguine se rétablit elle aussi et la réparation de la nageoire se trouve terminée.

La régénération de tels volets se fait de façon identique dans les différentes nageoires. Chez *Gobio gobio* le processus de régénération est très rapide, mais *Phoxinus phoxinus* convient beaucoup mieux pour l'étude de la vascularisation car ses nageoires sont plus transparentes. *Cobitis barbatula* n'est pas très favorable pour ces expériences car si la régénération de l'os se fait facilement, il n'en est pas de même pour les téguments ; chez cette espèce, la peau est en effet très longue à repousser et à refermer le trou pratiqué expérimentalement, ce qui retarde énormément la réparation des rayons.

En ce qui concerne les dimensions du volet, j'ai fait varier à la fois la longueur et la largeur. Pour cela, j'ai pratiqué des volets qui différaient les uns des autres soit par le nombre de rayons intéressés, soit par le nombre d'articles supprimés dans chaque rayon. J'ai alors été à même de remarquer que la longueur du régénérat formé avant l'apparition de l'os est beaucoup plus grande dans le cas de la régénération en volet que dans le cas de régénération terminale. En effet, dans tous les cas de régénération en volet que j'ai pu observer, l'orifice a toujours été refermé avant que l'os fasse son apparition, même lorsque la longueur du trou était importante, tandis que dans les régénérations terminales, la longueur du régénérat formé avant l'apparition de l'os ne dépasse jamais l'équivalent de trois ou quatre articles au maximum. J'ai essayé de faire à nouveau un trou dans les téguments dès que le volet est refermé et que l'ostéogénèse est déclenchée, mais cela n'a fait que retarder la régénération du rayon osseux jusqu'à ce que l'orifice soit à nouveau refermé, ce qui se fait d'ailleurs extrêmement rapidement.

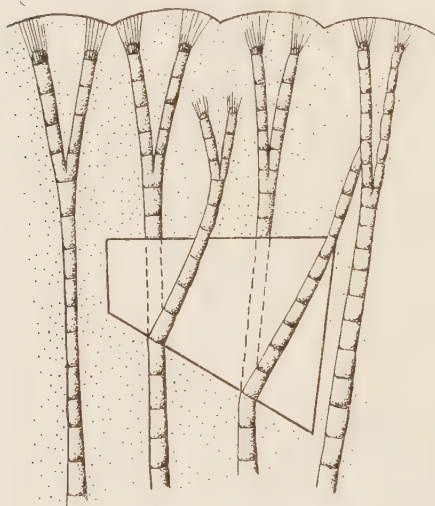


FIG. 46.

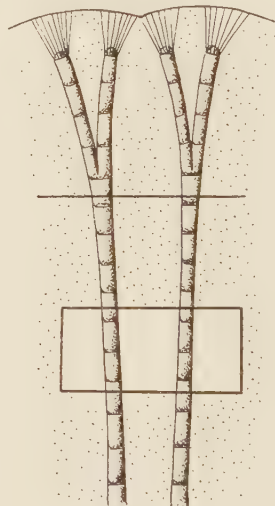


FIG. 47.

FIG. 46 et 47. — Schémas indiquant quelques cas curieux de régénération observés à la suite d'amputation médiane.

Lorsque le volet découpé dans la nageoire n'a pas une forme régulière, en particulier si le côté basal de ce volet est oblique au lieu d'être perpendiculaire aux lépidotriches, le fragment de rayon régénéré fait assez souvent un angle avec le fragment de rayon basal de façon à être à peu près perpendiculaire à la section, comme nous l'avons vu au début de ce chapitre ; de ce fait, ce fragment régénéré ne viendra pas se souder au fragment distal correspondant, lequel restera privé

de relation avec la base de la nageoire (voir fig. 46). Deux cas peuvent alors se présenter : ou bien le fragment régénéré obliquement ne rencontrera aucun autre rayon et continuera à croître en se redressant peu à peu jusqu'à ce qu'il atteigne le bord de la nageoire en formant ainsi un nouveau rayon, ou bien il rencontrera le fragment distal d'un rayon voisin et viendra se souder à lui. Il peut même arriver alors que l'on ait un rayon formé par la réunion du fragment basal de l'un d'eux et du fragment distal d'un autre.

Le problème qui se pose alors est de savoir ce que devient un fragment distal de rayon qui reste ainsi isolé de la base de la nageoire. J'ai d'abord pensé qu'il dégénérerait et finirait par se résorber, mais je n'ai jamais constaté aucun indice de cette dégénérescence malgré des observations de longue durée, et je puis dire que des fragments distaux de rayons osseux, isolés de la base de la nageoire, ont pu se

Tableau n°8

Croissance terminale d'un rayon

maintenu isolé de la base de la nageoire

chez Pygosteus pungitius (L.) et Phoxinus phoxinus (L.)

pendant une année.

Date des observations	<u>Pygosteus pungitius</u> (L.)	<u>Phoxinus phoxinus</u> (L.)
1er Août	13 articles	23 articles
1er Octobre	15 articles	25 articles
1er Décembre	15 articles	26 articles
1er Février	15 articles	26 articles
1er Avril	17 articles	27 articles
2 Mai	18 articles	28 articles
1er Juin	19 articles	30 articles
1er Juillet	20 articles	31 articles

maintenir dans cette situation au moins pendant une année entière sans aucune résorption (voir tableau n° 8). Je pense donc qu'ils peuvent persister indéfiniment et ceci grâce à l'apport de matériaux que lui fournissent les rayons entiers voisins par l'intermédiaire des anastomoses sanguines transversales formées à la suite de l'opération.

Ces fragments osseux isolés de la base de la nageoire conservent le même aspect que les rayons entiers voisins et comme eux peuvent même continuer à s'accroître distalement par l'addition de nouveaux

articles à la partie terminale, ainsi qu'on peut s'en rendre compte facilement en comptant le nombre des articles et en comparant les chiffres obtenus sur un même animal à différentes époques.

J'ai alors essayé de pratiquer à la fois sur les mêmes rayons, l'amputation de quelques articles médians de ces rayons et l'amputation des articles terminaux des fragments distaux déjà isolés de leur base par la première amputation (voir fig. 47). J'ai pu ainsi constater que l'extrémité distale des fragments de rayons isolés de leur base était même capable de régénérer leur partie terminale supprimée, au même titre que les autres rayons de la nageoire restés en relation avec leur partie basale.

Par conséquent, des fragments de rayons osseux, séparés expérimentalement de la partie basale de la nageoire et n'ayant de rapport avec celle-ci que par la voie sanguine, peuvent continuer à subsister ainsi, à croître normalement, et même à régénérer leur partie terminale si on la leur supprime.

La régénération en volet m'a également permis de résoudre un autre problème intéressant, relatif cette fois aux actinotriches. Ces actinotriches étant situés dans la région terminale des nageoires, c'est-à-dire dans la région où se forment normalement les nouveaux articles osseux, on peut se demander si ces actinotriches ne jouent pas un rôle dans la formation de ces articles osseux, notamment en ce qui concerne l'apparition des articulations ; nous savons en effet (complément au chapitre IV) que celles-ci se forment à un niveau bien précis, à égale distance les uns des autres. Or, aussi bien au cours de la croissance normale qu'au cours de la régénération terminale, il est difficile de prélever les actinotriches sans abîmer l'extrémité de la nageoire et les retards constatés alors dans l'ostéogénèse ne sont peut-être dûs qu'à la lésion des téguments et des os en formation, vue la disposition de ces éléments les uns par rapport aux autres. Par contre, dans mes expériences d'amputations en volet médian, la régénération se fait en dehors de la zone des actinotriches, laquelle se trouve toujours à la partie terminale du fragment distal. Or les parties de rayon ainsi formées sont tout à fait normales et les articulations se constituent avant même que la soudure entre le fragment régénéré et le fragment distal soit effectuée. Par conséquent, les actinotriches n'ont aucune action ni sur la formation de l'os, ni sur la formation des articulations.

En résumé, nous voyons que l'étude de la régénération des nageoires après amputation d'un volet médian permet de faire un certain nombre d'observations intéressantes expliquant notamment les anomalies rencontrées parfois sur les nageoires d'animaux capturés dans la nature (bifurcation anormale, déviation osseuse, vaisseaux anormaux, etc...) et qui sont certainement des traces laissées par un traumatisme analogue à celui que j'ai causé dans mes expériences. De plus, ce mode de régénération permet de résoudre des problèmes que la régénération terminale des nageoires ne permet pas d'envisager, tel le cas du rôle possible des actinotriches. Nous en verrons un autre

exemple, plus important encore, dans le Chapitre VI (action du système nerveux).

B. Etude histologique de la régénération des nageoires.

Cette étude a pour but de nous donner des renseignements sur la façon intime dont se produit l'ostéogénèse réparatrice chez les Poissons Téléostéens, car à part BEIGEL (1910), BANZ (1933) et M. PRENANT (1938), les auteurs qui se sont occupés jusqu'ici de la régénération des nageoires ne se sont guère occupés que du côté morphologique de la question.

1. — MATÉRIEL ET TECHNIQUES.

Pour les raisons que j'ai déjà indiquées plus haut, je me suis principalement servi des nageoires de Labridés pour étudier comment se faisait, au point de vue histologique, la régénération des rayons osseux et j'ai utilisé seulement ensuite les nageoires des autres espèces pour comparer et généraliser les résultats ainsi obtenus.

Les régénérats ont été prélevés à différents stades. Après fixation au Bouin trichloracétique, imprégnation à la celloïdine fluide (technique préconisée par MILLOT, 1926) et inclusion à la paraffine, ils ont été coupés perpendiculairement aux rayons osseux et colorés par des méthodes telles que l'hémalum-éosine, l'hémalum-picro-indigo-carmin, l'éosine-bleu de toluidine selon Dominici, le Mallory, la picro-fuchsine de Van Gieson et le mucic-carmin.

2. — OBSERVATIONS PERSONNELLES.

Pendant la belle saison, lorsque la température de l'eau atteint 18 à 20°, il faut environ un mois pour assister au processus complet de régénération chez les Labres.

a) *Réparation de l'épiderme.*

L'obturation de la blessure semble se faire surtout par glissement et étalement des cellules épidermiques voisines de la section ; ces cellules épidermiques ne se divisent pas, mais changent de forme et s'écartent les unes des autres ; elles restent seulement en rapport entre elles par des sortes de fines anastomoses qui leur donnent un aspect étoilé (voir fig. 49). La continuité épidermique se trouve ainsi provisoirement rétablie. Bientôt, de la surface vers la profondeur, on peut distinguer dans cet épiderme plusieurs zones de densité cellulaire différente : d'abord, une mince zone superficielle où les cellules sont serrées les unes contre les autres, ce qui assure la protection des zones sous-jacentes ; puis une zone très peu dense où les cellules sont étalées et écartées les unes des autres ; enfin une zone profonde, assez mince, de densité normale pour un épiderme et qui se forme aux dépens des

cellules basales qui prolifèrent. Cette couche profonde va prendre de l'importance et s'étendre peu à peu vers la région distale de l'épiderme ; la zone moyenne, par ce phénomène, perd de plus en plus de terrain et l'épiderme finira par être complètement régénéré de par sa base. La réparation de l'épiderme se fait donc sans l'intervention d'aucun élément étranger à ce tissu.

Précisons enfin que, contrairement à ce qui est signalé dans les ouvrages classiques traitant de la cicatrisation et de la régénération des tissus, la partie épidermique régénérée possède des glandes à mucus tout comme la partie ancienne de l'épiderme ; ces glandes à mucus apparaissent même, assez rapidement, et on peut constater leur présence avant que la réparation épidermique soit complètement terminée.

b) Organisation du tissu conjonctif.

Sous l'épiderme, il se fait un blastème conjonctif renfermant des cellules d'aspect irrégulier, à peu près toutes semblables au début



FIG. 48. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez *Labrus berggylta* Asc., 9^e jour après l'amputation.

c.b. = cellules basales de l'épiderme ; c.j. = cellules conjonctives ; f.j. = fibres conjonctives.

(fig. 48), mais qui, par la suite, se différencieront suivant des voies différentes (fig. 49) ; les unes resteront des cellules conjonctives normales, tandis que les autres deviendront un peu plus tard des ostéoblastes. Il apparaît assez vite des fibres conjonctives dans le blastème ; par contre, il ne semble pas y avoir de fibres élastiques. Le bord de la nageoire s'étend ainsi peu à peu en direction distale, grâce à la croissance de ce blastème de régénération. Nous avons donc à ce moment deux tissus dans la zone en cours de régénération : de l'épiderme en surface et du tissu conjonctif en profondeur, séparés l'un de l'autre par la membrane basale sous-épidermique.

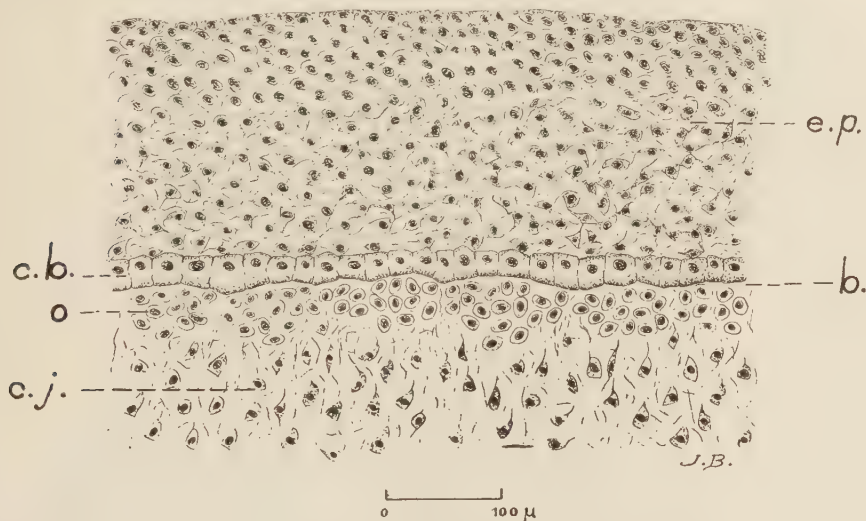


FIG. 49. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez *Labrus berggylta* Asc., 13^e jour après l'amputation.

c.b. = cellules basales de l'épiderme ; c.j. = cellules conjonctives ; e.p. = épiderme ; b. = membrane basale sous-épidermique ; o. = ostéoblastes.

c) Formation des rayons osseux.

Vers le douzième ou treizième jour, la membrane basale sous-épidermique, qui au début était peu apparente, s'accroît de plus en plus et commence à s'épaissir énormément par endroits. En même temps, il se fait par places, dans le derme, une accumulation de petites cellules, à noyau très sombre ; ces amas cellulaires se trouvent situés juste en-dessous de la basale épidermique, aux niveaux des épaissements de celle-ci (voir fig. 49). Ces cellules, serrées les unes contre les autres, changent rapidement d'aspect ; elles augmentent considérablement de taille ; leur noyau surtout devient volumineux et ne tarde pas à remplir la plus grande partie de la cellule ; de plus, il prend beaucoup plus fortement les colorants que les noyaux des autres cellules du tissu conjonctif. Les cellules qui s'amassent ainsi à cet endroit, et qui pren-

nent ces caractères, sont les futurs ostéoblastes. C'est à leur présence que sont dûes les bandes sombres visibles sur le vivant, un peu avant que l'os fasse son apparition dans les nageoires en régénération.

A partir de la membrane basale, et perpendiculairement à celle-ci, se forment alors de fines fibres conjonctives qui se faufilent dans le derme entre les cellules accumulées dans cette région sous-épidermique ; ces fibres sont sinueuses et ont l'aspect de vrilles ; elles se développent de plus en plus, se ramifient entre les cellules ostéoblastiques et parfois même s'anastomosent entre elles.

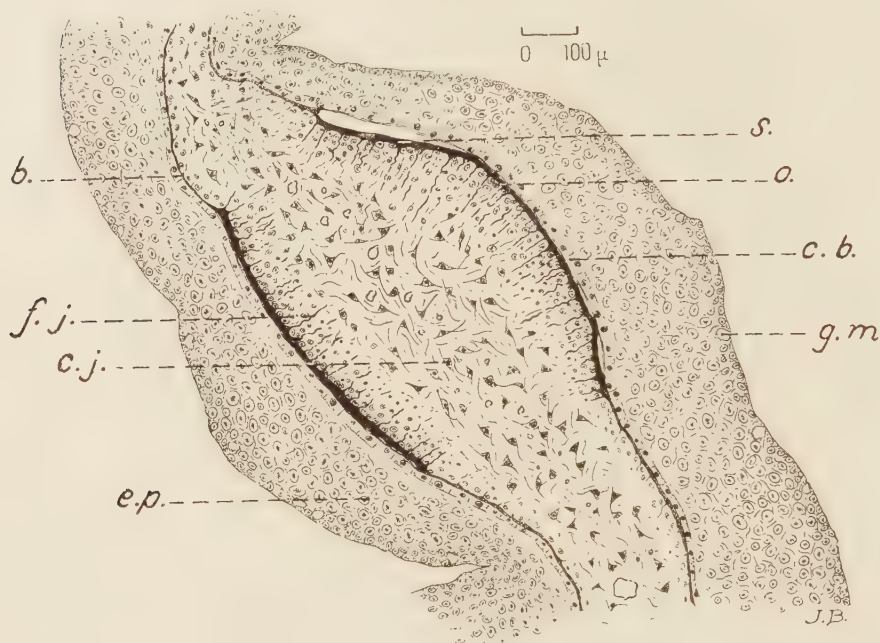


FIG. 50. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez *Labrus berggylta* Asc., 16^e jour après l'amputation.

b. = membrane basale sous-épidermique ; c.b. = cellules basales de l'épiderme ; c.j. = cellules conjonctives ; e.p. = épiderme ; f.j. = fibres conjonctives ; g.m. = glandes à mucus ; o. = ostéoblastes ; s. = substance ostéoïde.

C'est vers le seizième jour qu'apparaissent les premières travées osseuses (voir fig. 50). Elles se forment à la face inférieure de la membrane basale, exactement à l'endroit où se sont formés les épaisissements signalés ci-dessus et par conséquent au voisinage des amas cellulaires sous-épidermiques. Ces premières travées osseuses sont donc au début situées juste à la limite du derme et de l'épiderme ; mais peu à peu elles se détachent de la basale, s'enfoncent en profondeur dans le derme et sont repoussées vers le milieu de celui-ci (voir fig. 51 et 52). Les deux baguettes symétriques qui composent le même rayon se rap-

prochent ainsi l'une de l'autre et le tissu conjonctif, qui se trouve resserré entre les deux, prend petit à petit les caractères du conjonctif médian des nageoires adultes normales. En même temps, du tissu con-

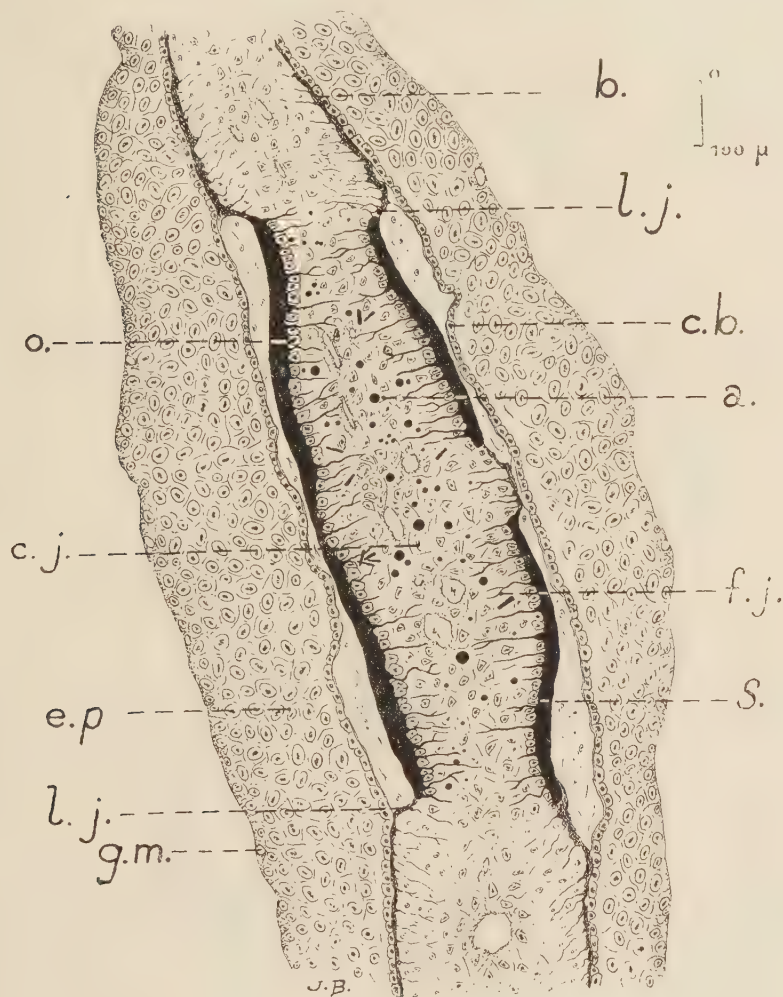


FIG. 51. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez *Labrus berggylta* Asc., 20^e jour après l'amputation.

a. = actinotriches ; b. = membrane basale sous-épidermique ; c.b. = cellules basales de l'épiderme ; c.j. = cellules conjonctives ; e.p. = épiderme ; f.j. = fibres conjonctives ; g.m. = glandes à mucus ; l.j. = liaison conjonctive entre l'os et la membrane basale ; o. = ostéoblastes ; s. = substance ostéoïde.

jonctif banal s'infiltré entre la basale sous-épidermique et l'os, dans l'espace laissé libre par le décollement de celui-ci. Les travées osseuses

néoformées au début sont très minces et très larges, mais au fur et à mesure qu'elles se décollent et s'éloignent de la basale, leur épaisseur s'accroît et leur forme se modifie ; en effet, ces travées osseuses sont

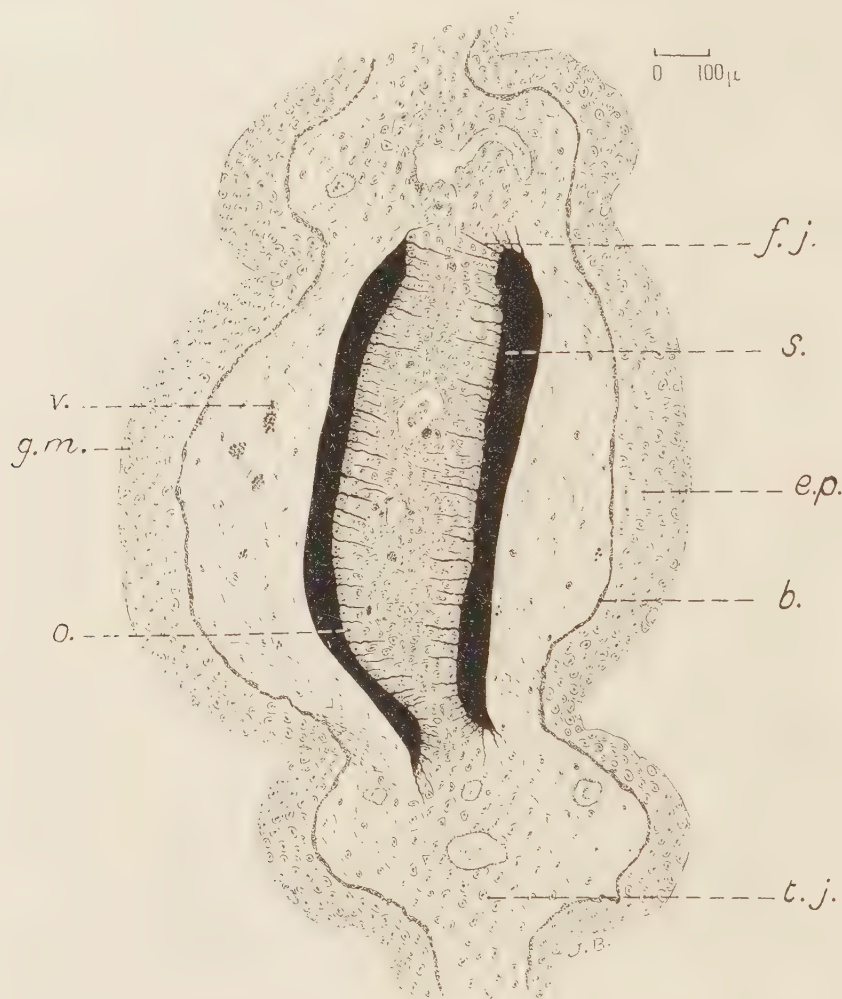


FIG. 52. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez *Labrus berggylta* Asc., 24^e jour après l'amputation.

b. = membrane basale sous-épidermique ; e.p. = épiderme ; f.j. = fibres conjonctives ; g.m. = glandes à mucus ; o. = ostéoblastes ; s. = substance ostéoïde ; t.j. = tissu conjonctif ; v. = vaisseaux sanguins.

d'abord presque planes et beaucoup plus larges que les baguettes anciennes, mais au fur et à mesure qu'elles se rapprochent du plan médian de la nageoire et qu'elle s'épaississent, elles se rétrécissent et

prennent peu à peu la forme d'une gouttière, forme qui, on le sait, est celle des baguettes osseuses normales.

En observant comment se fait la séparation entre l'os et la basale sous-épidermique, j'ai constaté un fait qui me semble particulièrement intéressant à signaler ici. Les travées osseuses, lorsqu'elles se décollent de la basale et qu'elles s'éloignent de celle-ci, restent cependant en relation par leurs deux bords latéraux avec la membrane basale qui se trouve en quelque sorte dédoublée (voir fig. 51 et 53). En somme, au niveau des rayons, la membrane basale se clive en deux parties ; il y

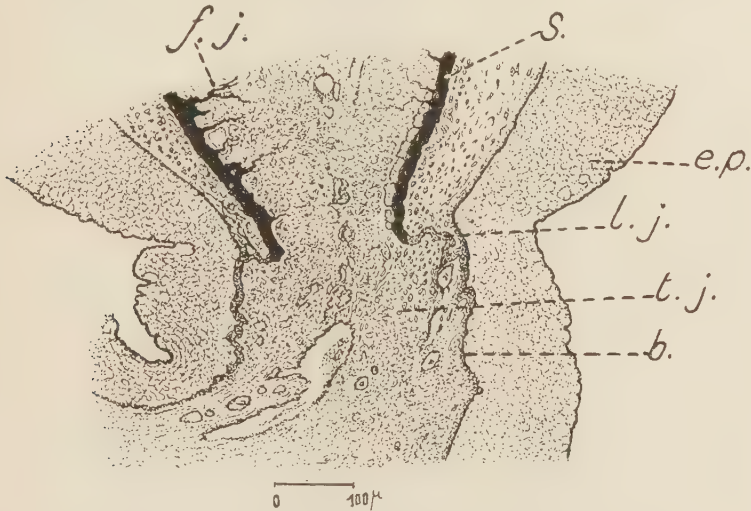


FIG. 53. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez *Labrus berggylta* Asc. Liaison provisoire entre la membrane basale sous-épidermique et l'extrémité de la travée osseuse encore bien visible.

b. = membrane basale sous-épidermique ; e.p. = épiderme ; f.j. = fibres conjonctives ; l.j. = liaison conjonctive entre l'os et la membrane basale ; s. = substance ostéoïde ; t.j. = tissu conjonctif.

a ainsi d'une part la membrane basale normale qui sépare l'épiderme du derme, et d'autre part une membrane collagène, assez épaisse au début, plus mince par la suite, qui relie la basale normale à l'extrémité de l'os, et qui se trouve par conséquent en plein tissu conjonctif. Par contre, dans la zone interradiaire, la membrane basale reste simple. Cette liaison entre l'os et la basale, qui montre bien l'origine de l'os des rayons, persiste un certain temps dans la partie régénérée ; elle ne disparaît que lorsque le rayon néoformé est presque normal (voir fig. 52) et de la façon suivante : la membrane de liaison, épaisse au début, s'amincit progressivement au fur et à mesure que l'os s'éloigne en profondeur ; elle devient alors du calibre des fines fibres conjonctives spiralées dont j'ai parlé plus haut ; à ce moment, elle s'interrompt et ce qui en reste se confond avec les fibres collagènes voisines ;

lorsque les rayons sont complètement réparés, il n'en reste plus trace.

Lorsque les futures baguettes sont à peu près décollées de la basale sous-épidermique, elles se présentent sous forme de masses osseuses assez irrégulières, plus ou moins anfractueuses, avec des lacunes renfermant des cellules conjonctives et des ostéoblastes (voir fig. 54 et 55). Les deux faces d'une même travée ne sont généralement pas semblables. La face externe (c'est-à-dire celle qui est la plus proche de la

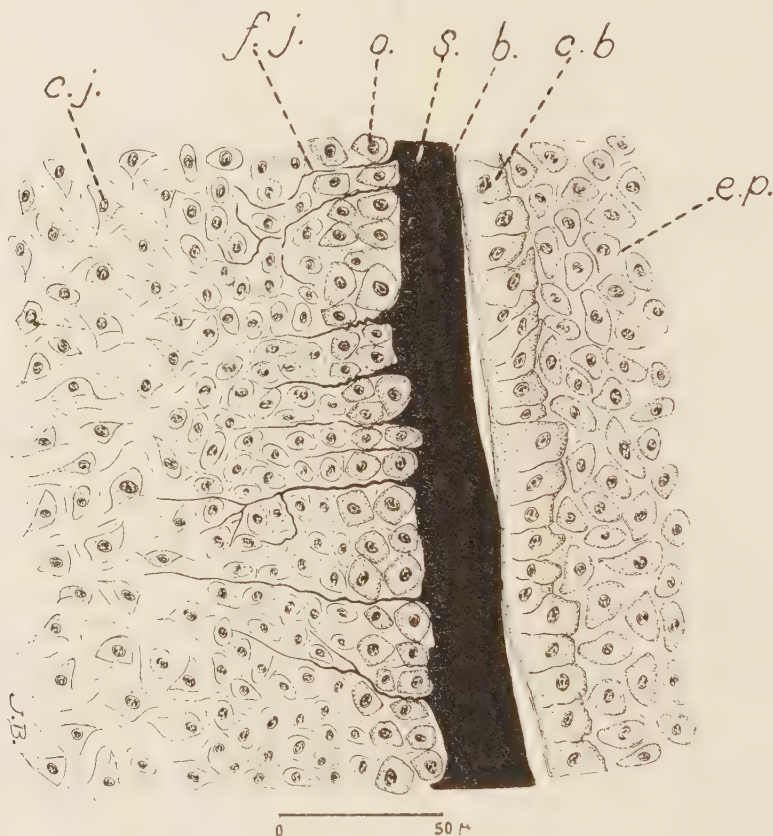


FIG. 54. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez *Labrus berggylta* Asc., 16^e jour après l'amputation. Dessin de détail montrant les ostéoblastes et les fibres conjonctives sur la face interne de la travée osseuse.

b. = membrane basale sous-épidermique ; c.b. = cellules basales de l'épiderme ; c.j. = cellules conjonctives ; e.p. = épiderme ; f.j. = fibres conjonctives ; o. = ostéoblastes ; s. = substance ostéoïde.

basale sous-épidermique) est à peu près rectiligne. Elle n'est revêtue que de quelques ostéoblastes disséminés çà et là et ne donne naissance qu'à des fibres conjonctives peu nombreuses, très courtes et presque droites. Au contraire, la face interne (c'est-à-dire celle qui est la plus

proche du plan médian de la nageoire) est beaucoup plus sinueuse. De plus, elle est revêtue de très nombreux ostéoblastes ; ce sont les

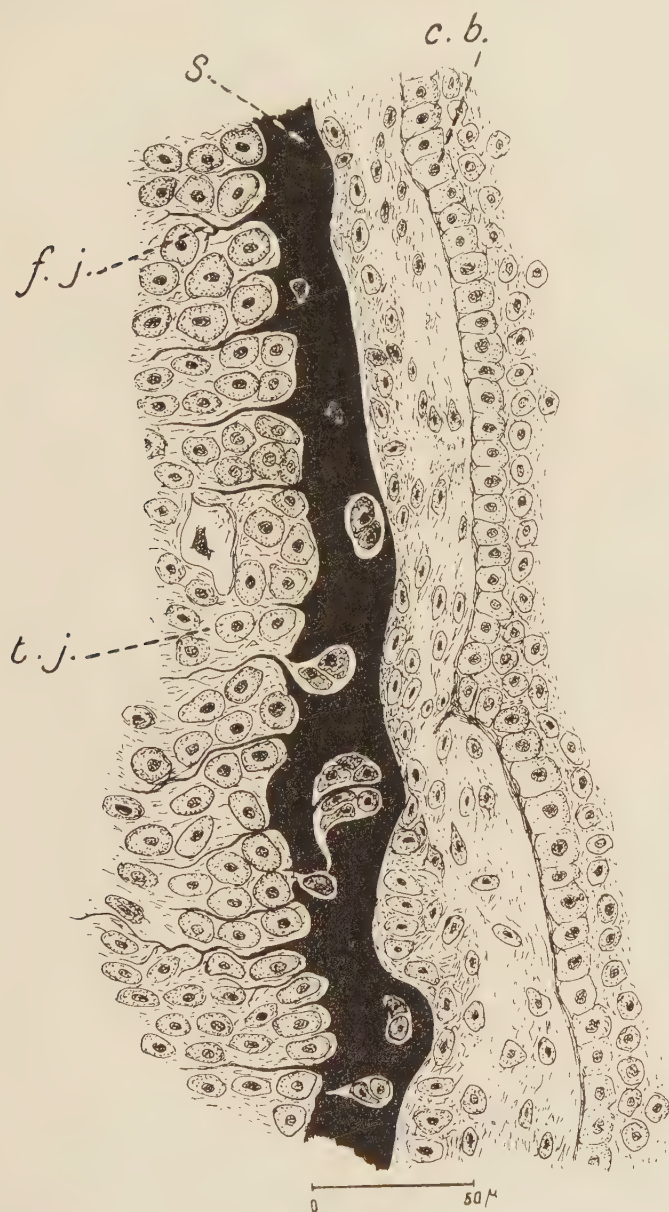


FIG. 55. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez *Labrus berggylta* Asc. Exemple de travée osseuse creusée d'anfractuosités.

c.b. = cellules basales de l'épiderme ; f.j. = fibres conjonctives ; s. = substance ostéoïde ; t.j. = tissu conjonctif.

ostéoblastes qui, au début, s'étaient formés à la face inférieure de la basale et qui ont été refoulés peu à peu par l'os jusque dans cette région ; leur aspect est alors celui de volumineuses cellules, alignées sur un rang, pourvues d'un gros noyau avec un nucléole important et d'un cytoplasme basophile qui semble plaqué contre la face profonde de la travée osseuse. Enfin, cette face profonde donne naissance à des fibres conjonctives nombreuses, assez longues et en forme de vrilles ; ce sont les fibres que l'on a vues se former perpendiculairement à la basale au début du phénomène de régénération, et qui, comme les ostéoblastes entre lesquels elles se faufilent, ont été amenées jusque là par la formation et la croissance de l'os. Les rapports entre le tissu osseux et les tissus voisins ne sont donc pas les mêmes sur les deux faces de l'os ; ceci n'est d'ailleurs pas surprenant, puisque le conjonctif médian n'a pas du tout les mêmes caractères que le conjonctif externe et étant donnée la façon dont les travées osseuses se forment.

Il est intéressant de remarquer, ainsi que l'a déjà fait observer PRENANT (1938), que les nouvelles travées osseuses, lorsqu'elles se constituent, ne sont pas du tout en continuité avec les extrémités sectionnées des anciens rayons, puisque l'os nouveau apparaît au niveau de la basale sous-épidermique, alors que l'os ancien se trouve beaucoup plus au milieu de la nageoire. La réunion entre la portion ancienne et la portion néoformée ne se fait que secondairement et, sur certaines coupes transversales voisines du niveau de l'amputation, on peut même voir à la fois les deux sortes de travées (voir fig. 56). D'ailleurs, lors de leur formation, les masses osseuses nouvelles sont beaucoup plus larges que les baguettes anciennes ; il arrive même que deux masses osseuses successives, appartenant à deux rayons différents, mais voisins, entrent en contact et se soudent l'une à l'autre (voir fig. 57) ; elles se séparent alors plus tard, lorsque les rayons commencent à se rapprocher de leur forme et de leur situation normales.

Il faut remarquer également qu'en ce qui concerne leur formation, les deux baguettes symétriques qui constituent les deux moitiés d'un même rayon sont absolument indépendantes l'une de l'autre. En effet, dans les phénomènes qui viennent d'être décrits, il n'y a aucune simultanéité dans la formation des deux travées ; les mêmes phénomènes histologiques ne se passent pas forcément au même moment des deux côtés ; il y a même parfois un décalage important. A ce point de vue, il y a autant de différence entre les deux moitiés du même rayon qu'entre des baguettes osseuses appartenant à des rayons différents, voisins ou non.

Tout ce que nous avons vu jusqu'à maintenant concerne uniquement la partie néoformée du rayon, mais il se passe également des phénomènes intéressants dans la partie ancienne du rayon. En effet, dans la zone qui se trouve juste en-dessous de la section, on peut observer, en même temps qu'une décalcification partielle, des modifications histologiques qui ont pour résultat de régulariser et d'aplanir le bord de l'os à l'endroit où l'on a pratiqué l'amputation, et de faire disparaître par phagocytose les esquilles qui ont pu se détacher lors de

l'amputation et rester implantées dans les tissus voisins. PRENANT a d'ailleurs déjà signalé l'existence de régression et de remaniements

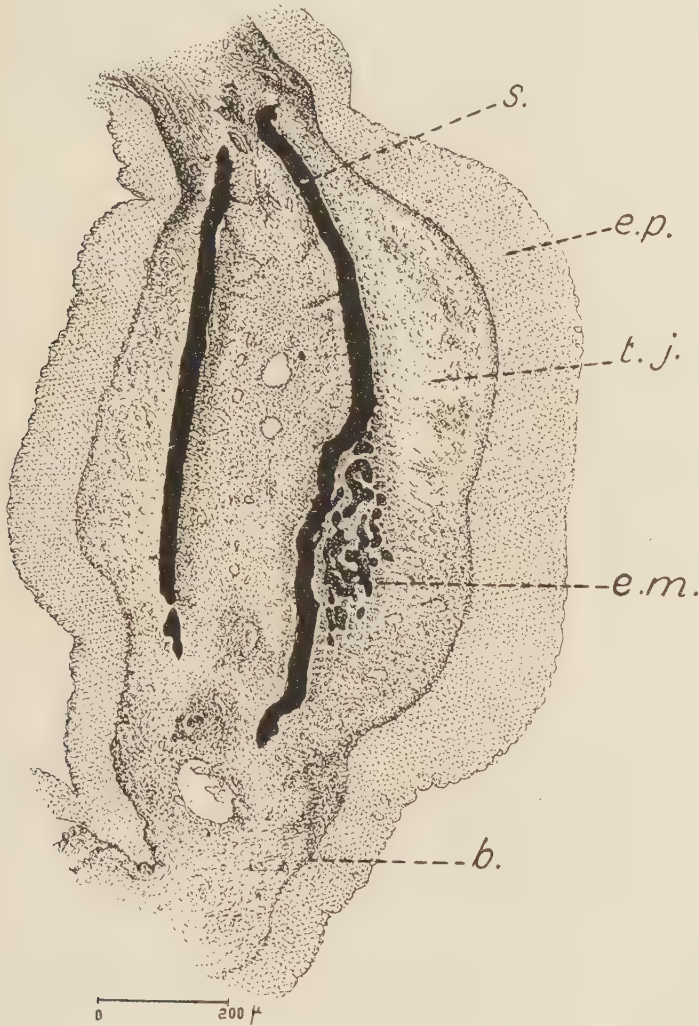


FIG. 56. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez *Labrus berggylta* Asc. Coupe transversale voisine du niveau de l'amputation et montrant à la fois les nouvelles travées osseuses et l'extrémité d'un moignon osseux en plein remaniement.

b. = membrane basale sous-épidermique ; e.m. = extrémité du moignon osseux ; e.p. = épiderme ; s. = substance ostéoïde ; t.j. = tissu conjonctif.

osseux dans cette région, sur des animaux dont le squelette a été auparavant coloré vitalement par des injections d'alizarine. L'examen

de mes coupes histologiques confirme pleinement cette observation ; j'ai pu voir très nettement l'existence de fissures et de poches pratiquées dans l'os de cette région. Dans ces cavités, il existe de nombreux ostéoblastes qui, comme le dit PRENANT, semblent avoir un rôle destructeur probable. Les ostéoblastes seraient au moins autant des agents de résorption osseuse que des agents d'ossification. Nous reviendrons d'ailleurs au cours du Chapitre VIII sur ce problème. En effet, ces

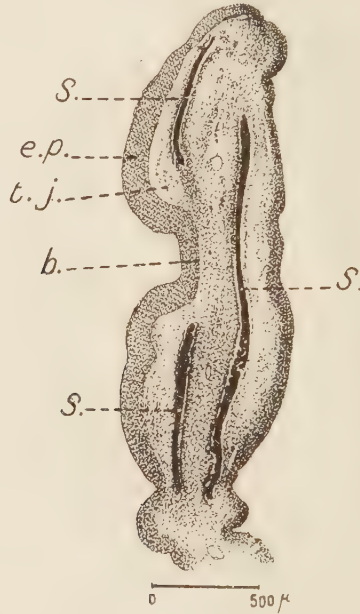


FIG. 57. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez *Labrus berggylta* Asc. Soudure provisoire de deux travées osseuses successives appartenant à deux rayons différents.

b. = membrane basale sous-épidermique ; e.p. = épiderme ; s. = substance ostéoïde ; t.j. = tissu conjonctif.

cellules se plaquent étroitement contre la surface osseuse en voie de fractionnement, et on voit même souvent leur cytoplasme pousser des prolongements dans les moindres cavités de cette surface osseuse, et les agrandir ou entourer des zones restées saillantes et les détruire. On obtient donc dans cette région des images assez voisines de celles obtenues par P. BUDKER (1938), au cours de son étude sur la résorption des dents cutanées des Sélaciens. Signalons d'ailleurs que les transformations de cette région n'intéressent pas uniquement l'os ; à l'aide des colorations électives des fibres collagènes, on peut constater également un remaniement intense du tissu conjonctif qui entoure le moignon osseux.

Nous avons vu plus haut qu'il se formait, dans la partie régénérée

de la nageoire, des masses osseuses nouvelles, aux dépens de la basale sous-épidermique et sans aucun rapport de continuité avec ces moignons osseux. Le raccord finit pourtant par s'établir entre les deux portions osseuses, par l'intermédiaire d'une zone qui, restée pendant un certain temps à l'état d'os plus ou moins anfractueux, devient, après plusieurs remaniements, de l'os régulier, tout à fait analogue à celui qui a été supprimé lors de l'amputation.

Au point de vue histologique, la réparation des nageoires amputées de leur extrémité distale se fait de la même façon chez les différentes espèces sur lesquelles j'ai pu expérimenter. Toutefois, il est évident que, chez certaines familles telles que les Labridés, les Gobiidés, les Blenniidés, les Cottidés, les Serranidés et les Pomacentridés, dont le squelette reste ostéoïde toute la vie, il n'y a jamais incorporation de cellules osseuses dans la substance fondamentale ; il n'est donc pas possible chez ces animaux de suivre le passage du tissu ostéoïde au tissu osseux. Par contre, chez les espèces appartenant à des familles telles que les Siluridés ou les Cyprinidés, l'os qui se forme est d'abord ostéoïde (voir fig. 32, Pl. VI), mais se transforme par la suite en tissu osseux ; on peut alors suivre progressivement l'incorporation des cellules osseuses dans la substance fondamentale des nouvelles baguettes et par conséquent constater le passage progressif du tissu ostéoïde au tissu osseux au cours de la régénération. Ceci concorde pleinement avec ce que j'ai déjà décrit dans un précédent chapitre (Chapitre IV).

d) *Homologie avec les écailles.*

Une théorie classique, déjà fort ancienne, émise et défendue notamment par BAUDELLOT (1873), par HERTWIG (1876 et années suivantes) et par GOODRICH (1903), interprète les articles de rayons mous comme étant probablement homologues à des écailles. Ainsi, chaque rayon représenterait une double série d'écailles. Ces deux sortes d'organes ont manifestement une certaine parenté et ils appartiennent tous deux au squelette dermique ou exosquelette. BAUDELLOT (1873) compare même les sillons rayonnants qui résultent de la croissance des écailles aux lignes d'articulations qui séparent les différents articles des rayons mous. D'ailleurs on connaît certaines formes, notamment chez *Lepidosteus*, où les articles ont presque l'aspect et la structure des écailles.

M. PRENANT (1937) se montre favorable à cette théorie ; en effet, les articulations apparaissent de façon primaire (contrairement à l'opinion de HARRISON), chaque article a son ébauche propre, tout comme des écailles voisines entre elles ont la leur.

Or l'étude histologique de la régénération des lépidotriches apporte une nouvelle confirmation de cette façon de penser. En effet, le début de la régénération des rayons se fait selon un mode tout à fait comparable à la façon dont se constituent les écailles et exactement au même niveau des téguments. Il suffit de regarder attentivement la figure 50 par exemple, pour se convaincre de la ressemblance. Le développement normal des rayons de nageoires nous montre également cette ressemblance, mais de façon beaucoup moins nette que la régénération, étant

données les faibles dimensions des nageoires de jeunes alevins en comparaison de celles des nageoires adultes en régénération.

e) *Apparition des actinotriches.*

Avant de terminer, je dirai quelques mots concernant les actinotriches. Les actinotriches régénèrent eux aussi ; ils régénèrent même complètement puisque, par suite de leur position à l'extrémité des rayons, ils sont enlevés entièrement lors de l'amputation de la partie distale de la nageoire. J'ai examiné les modalités de la régénération des actinotriches, afin d'établir une comparaison avec leur développement normal, qui a été particulièrement bien étudié par H. GARRAULT (1935, 1936). D'après cet auteur, au cours du développement des nageoires de Salmonidés, les actinotriches prennent généralement naissance juste sous la basale épidermique, dans le milieu intercellulaire, mais dans certains cas il peut s'en former ailleurs, dans l'épaisseur de la nageoire ; on observe alors des bouquets de fibrilles non orientées. Au cours de la régénération, les fibres d'élastoïdine apparaissent dans le régénérat lorsque la condensation cellulaire sous-épidermique est déjà déclenchée depuis un certain temps et que l'os commence à apparaître. Les actinotriches ne peuvent donc pas se former juste en-dessous de la basale à cause de la présence de ces ostéoblastes et même, le cas échéant, à cause de la présence des premières travées osseuses, qui constituent une barrière entre eux et la membrane basale. Ils se forment alors plus vers le milieu de la nageoire, dans le tissu conjonctif situé entre les deux amas latéraux d'ostéoblastes (voir fig. 51). De plus, ces actinotriches ne sont pas orientés et sont assez souvent groupés en bouquets ; certains même apparaissent coupés en long sur des coupes transversales. En somme, dans le cas de la régénération, le mode de formation prédominant est celui qui, au cours du développement, est considéré comme une exception. Ceci confirme l'idée de H. GARRAULT, selon laquelle l'orientation normale des actinotriches est due à la structure particulière de la basale épidermique, puisque, au cours de la régénération où les actinotriches ne peuvent apparaître juste au voisinage de la basale, ils ne sont pas orientés normalement. Par contre, durant le développement normal, les actinotriches peuvent évidemment se former juste en-dessous de la lame basale, car il n'y a pas encore ni d'os en voie de formation ni même d'ostéoblastes accumulés à cet endroit ; on sait que, chez les jeunes alevins, les actinotriches constituent à eux-seuls la charpente de soutien et existent bien avant l'apparition des premiers rayons osseux.

3. — CONCLUSION.

De l'étude histologique de la régénération des nageoires, il résulte que la réparation de celles-ci met en œuvre à la fois des phénomènes de réorganisation et des phénomènes de néoformation, mais cette étude permet surtout de mettre en évidence la grande importance de la lame sous-épidermique. Nous avons vu, en effet, que c'est à la face inférieure

de la basale et sans aucun rapport avec les moignons osseux anciens, que se forment les premières travées osseuses ; de plus, lorsque ces travées se décollent de la basale sous-épidermique, elles restent longtemps en rapport avec celle-ci par une sorte de lame conjonctive qui se forme par clivage de la basale au moment du décollement de l'os. Outre son rôle vis-à-vis de l'os nouveau, la basale sous-épidermique a aussi une action sur la formation des fibres conjonctives, puisque les premières fibres conjonctives à orientation vraiment nette qui se forment dans le blastème, apparaissent justement à la face inférieure de la basale. D'ailleurs, dans les nageoires dont la réparation est à peu près terminée, les fibres conjonctives, d'après leur direction, peuvent en gros être rangées en deux groupes : l'un où les fibres sont perpendiculaires à l'os et à la basale, et l'autre où les fibres sont parallèles à l'os et à la basale. Enfin, cette basale sous-épidermique joue encore un rôle dans l'orientation des fibres d'élastoïdine, puisque lorsque celles-ci ne se forment pas à son contact, à cause de la présence d'autres éléments, elles ne sont pas orientées normalement. C'est probablement dans l'architecture même de la membrane basale sous-épidermique qu'il faudrait chercher l'explication de ces phénomènes ; jusqu'à présent nous savons simplement que la basale sous-épidermique est constituée par un double système de fibrilles entrecroisées à angles droits et nos connaissances sur sa structure intime sont encore trop peu avancées pour nous apporter des éclaircissements sur ce sujet.

C. Etude histochimique de la régénération des nageoires.

Le tissu osseux est formé par une matière organique protéique sur laquelle sont fixés des composés minéraux qui lui donnent sa dureté bien connue. Il est maintenant admis que ces composés minéraux sont toujours fixés sur la partie protéique située entre les fibres collagènes et jamais sur celles-ci.

La substance minérale des os est formée principalement par du *calcium*, du *phosphore* et de l'*anhydride carbonique*. Il est classique d'admettre que ces ions sont groupés en molécules de *phosphate tricalcique* $(\text{PO}_4)^{2-} \text{Ca}^{3+}$ et de *carbonate de calcium* $\text{CO}_3 \text{Ca}$. Indépendamment de ces éléments essentiels, on trouve également dans l'os un peu de magnésium, de sodium, de potassium, de chlore et de fluor, mais en très faible quantité.

On pensait autrefois que le phosphate et le carbonate de calcium de l'os étaient absolument indépendants l'un de l'autre. Puis l'étude de la diffraction des rayons X par la substance osseuse a fait penser que ces deux sels pouvaient être chimiquement combinés en une molécule complexe du groupe des *apatites* que l'on trouve dans la nature et dont la principale est la *carbonato-apatite* : $3 (\text{PO}_4)^{2-} \text{Ca}^{3+} \cdot \text{CO}_3 \text{Ca}$. ROCHE et POLICARD ont alors déclaré (1937) que le phosphate et le carbonate de calcium existaient dans l'os en partie à l'état de mélange formant la portion mobile des sels osseux et en partie sous forme de

combinaisons stables et définies constituées par des apatites et dont la principale serait la *carbonato-apatite*. Mais tout récemment, DALLE-MAGNE et ses collaborateurs (1941 à 1945) ont montré, par des méthodes physiques et chimiques, que l'os ne renfermait pas d'apatite, mais simplement du phosphate tricalcique hydraté (1), (forme α , isomorphe de l'apatite), et du carbonate de calcium, sans combinaison chimique, celle-ci ne se réalisant que lorsqu'on calcine l'os à 900° dans une atmosphère de gaz carbonique.

La nature même de la partie calcaire de la substance osseuse semble donc à peu près connue, mais la façon dont se dépose cette substance calcaire au cours de l'ossification est encore très mystérieuse.

Nous avons tenté, pour terminer ce chapitre, de chercher à localiser, par voie histochimique, les sels de calcium et quelques autres substances susceptibles d'intervenir au cours de l'ostéogénèse réparatrice des lépidotriches articulés des nageoires de Poissons Téléostéens, après amputation expérimentale.

1. — RECHERCHE HISTOCHIMIQUE DU CALCIUM.

La recherche du calcium sur coupes est plus difficile que l'on ne croit et nécessite l'emploi de méthodes parfois discutées. J'ai donc pensé qu'il était utile pour commencer, de faire une mise au point concernant la partie technique de la question.

a) *Techniques de recherche histochimique du calcium.*

La difficulté essentielle dans toute recherche histochimique est la question de la fixation. Pour la recherche du calcium, il faut évidemment utiliser un fixateur neutre qui ne risque pas de décalcifier la pièce sur laquelle on se propose de déceler ensuite le calcium. Il est par exemple impossible de rechercher le calcium sur du matériel fixé à l'aide de fixateurs tels que le Bouin qui renferme de l'acide picrique et de l'acide acétique, le Zenker qui renferme également de l'acide acétique, ou le Susa qui contient à la fois de l'acide acétique et de l'acide trichloracétique. J'ai bien essayé d'utiliser des fixateurs ne renfermant pas d'acides tels que le Helly (Zenker-formol) ou le Schaudinn (sublimé-alcoolique) mais ces mélanges ne m'ont donné que des résultats inconstants ; en effet, après de telles fixations, les réactions histochimiques du calcium sont parfois positives, mais parfois négatives. De toute façon, ils ne peuvent convenir pour la recherche du calcium existant sous forme de particules fines et fragiles comme il en existe parfois dans les tissus en voie de calcification (voir chapitre VIII).

Le formol neutre est très utilisé par certains auteurs. Pour ma part, je le déconseille. En effet le formol, même soigneusement neutralisé, ne se conserve pas ainsi bien longtemps, et il arrive qu'au cours de la fixation il se forme des produits acides, et notamment des traces d'acide formique, en quantité suffisante pour agir sur les parties cal-

(1) $3(\text{PO}_4)^2 \text{Ca}^{3.2\text{H}} (\text{OH})$.

cifiées les plus fragiles. On n'est donc jamais certain avec cette méthode d'avoir décelé tout le calcium qui existait dans les tissus avant la fixation. Ce procédé ne peut convenir que lorsqu'il s'agit d'une étude topographique assez grossière. Quant à la solution qui consiste à ajouter du carbonate de calcium au formol fraîchement neutralisé pour lui permettre de conserver plus longtemps sa neutralité, je ne crois pas qu'elle soit bien recommandable, car il n'est guère indiqué de fixer des tissus qui présentent une grande affinité pour le calcium dans un liquide renfermant lui-même un sel de ce métal, si l'on a pour but la recherche histochimique du calcium existant dans le tissu ainsi fixé.

La méthode de fixation qui me paraît la plus sûre est la fixation par un alcool fort (95 à 100°). Cette fixation à l'alcool a évidemment le défaut d'être une mauvaise fixation histologique, surtout pour les noyaux, mais il n'est pratiquement pas possible de faire autrement. On peut essayer d'y remédier en y ajoutant un peu de chloroforme ; l'amélioration obtenue n'est d'ailleurs pas bien grande.

Sur les tissus ainsi fixés, le calcium peut être mis en évidence par de nombreuses méthodes, mais il y en a assez peu qui soient satisfaisantes. En effet, la plupart d'entre elles ne sont pas absolument spécifiques du calcium ; tant qu'à celles qui sont vraiment spécifiques, elles ne sont généralement guère utilisables parce qu'elles ne permettent pas une localisation assez précise, ou parce qu'elles ne sont pas assez sensibles.

Passons rapidement en revue les principales méthodes classiques :

Méthode des laques à l'hématoxyline : Elles ne sont pas utilisables pour la recherche du calcium car la réaction manque absolument de spécificité. D'abord il y a d'autres métaux (le fer par exemple) qui sont également colorables par cette méthode. De plus, les noyaux des cellules et la substance fondamentale de l'os ont une affinité très nette pour l'hématoxyline et ce n'est pas le calcium de l'os mais la substance fondamentale osseuse qui donne la réaction. Enfin la réaction peut être obtenue sur des coupes ayant été préalablement décalcifiées. Il ne peut donc être question de l'utiliser en histochimie.

Méthode des laques à l'alizarine : Les méthodes qui emploient l'alizarine ou ses dérivés (purpurine, anthrapurpurine, etc...) sont déjà beaucoup plus satisfaisantes, à condition bien entendu de prendre quelques précautions pour leur utilisation. La méthode du D^r CRETIN, par exemple, où l'on mordance au préalable les coupes par l'aluminium n'a évidemment aucune valeur. La meilleure façon d'utiliser l'alizarine est certainement, comme le fait M. PRENANT, d'injecter ou de faire ingérer ce produit aux animaux vivants pendant quelques temps avant de les sacrifier (c'est d'ailleurs avec ce principe que DUHAMEL réalisa sa fameuse expérience relative à la croissance des os, en faisant ingérer de la garance à des Porcs). Le seul inconvénient notable dans l'utilisation de l'alizarine en histochimie est que la réaction est assez peu sensible et ne peut servir que lorsqu'on a affaire à une grosse quantité de calcium.

Méthode au pyrogallol : Cette méthode est assez sensible, mais trop peu spécifique. Elle convient en effet pour déceler d'autres corps tels que le sodium, le potassium et le magnésium. D'autre part elle ne donne pas de réaction bien nette dans les cas délicats, le calcium et le fond étant tous deux plus ou moins jaunâtres.

Méthode au réactif gallo-formique : Cette méthode, découverte par le D^r CRETIN, est, d'après son auteur, absolument spécifique et extrêmement sensible. Malheureusement elle est brutale et fort difficile à réussir et je dois avouer que, pour ma part, je n'ai eu que des échecs avec ce procédé où les coupes sont d'ailleurs presque toujours détériorées en raison de la forte alcalinité du réactif, surtout lorsqu'il s'agit de coupes délicates comme certaines coupes d'os dont il sera question dans le Chapitre VIII.

Méthode des cristaux de gypse : C'est une réaction très sûre. Malheureusement elle ne peut donner que des renseignements très vagues car elle ne permet pas de localisation précise. Elle n'est pas cytologique du tout.

Méthode à l'acide iodique : Cette méthode due à DENIGÈS et modifiée par TURCHINI, est également spécifique mais non utilisable en raison de son manque de précision.

Méthode de RABL à l'oxalate d'ammonium : Cette réaction, comme les deux précédentes ne permet pas de localiser avec assez de précision le calcium qui n'est pas toujours précipité exactement *in situ*.

Méthode de VON KOSSA : Cette méthode n'est évidemment pas considérée comme absolument spécifique du phosphate de calcium ainsi que le pensait son auteur. En effet, d'après LISON elle pourrait être donnée par du carbonate de calcium amorphe et aussi par quelques corps tels que le cuivre, le plomb et le mercure. Elle est cependant fort utile car elle donne des images nettes qui, interprétées avec précaution, peuvent donner des renseignements précis dans certains cas, notamment lorsqu'il s'agit de tissu osseux.

Méthode aux sels de cobalt : Cette méthode qui consiste à traiter les coupes par un sel soluble de cobalt (acétate, nitrate, etc...) puis à obtenir du sulfure de cobalt noir par traitement au sulfure d'ammonium dilué, est très critiquée par LISON qui prétend même qu'elle reste positive après décalcification. Je signale que, personnellement, je n'ai jamais obtenu de réaction positive sur mon matériel après décalcification, bien au contraire, et que je considère cette réaction comme pouvant donner des renseignements intéressants au sujet de l'ossification lorsque l'on opère sur un matériel familier. Cette réaction est d'ailleurs très utilisée indirectement pour la recherche des phosphatases.

Microincinération : Cette dernière méthode, mise au point par POLICARD, serait évidemment la plus sûre, d'autant plus qu'elle permet de mettre en évidence tout le calcium, y compris celui qui, étant masqué, ne peut agir sous forme ionique. De toute façon, cette méthode

ne peut être d'une grande utilité étant donné qu'elle ne permet qu'une localisation très approximative, même si, en plus de l'examen des cendres qui sont d'un blanc crayeux, on effectue également la réaction des cristaux de gypse ou la réaction de l'acide iodique sur le spodogramme obtenu.

D'après tout ce qui précède, il semble donc impossible d'avoir une réaction possédant à la fois toutes les qualités exigées, c'est-à-dire qui soit spécifique, sensible et localisatrice. Certaines de ces réactions que l'on pensait être spécifiques du calcium sont en réalité caractéristiques des anions associés au calcium (l'anion $\text{PO}_4^{\equiv}$ par exemple) et n'impliquent pas forcément la présence du métal recherché. D'autres réactions sont en réalité dues à l'affinité de la substance fondamentale de l'os pour certains réactifs (hématoxyline) et ne sont donc pas davantage spécifiques du calcium. D'autres réactions (micro-incinération, cristaux de gypse, acide iodique) sont spécifiques mais sans intérêt véritable parce que ne permettant aucune localisation précise. D'autres enfin (alizarine) sont spécifiques et localisatrices, mais manquent de sensibilité et ne peuvent servir que lorsqu'on est en présence d'une grosse quantité de calcium. Pour ma part, je signale que, pour le sujet sur lequel j'ai travaillé, les réactions qui m'ont rendu le plus de services sont certainement la réaction argentique de von Kossa et la réaction aux sels de cobalt-sulfure d'ammonium. Interprétées avec précautions, elles donnent des renseignements précis et tout à fait comparables.

Cette mise au point technique semble peut-être un peu longue, mais elle s'avérerait nécessaire et me permet de ne pas avoir à revenir plus loin sur les problèmes d'ordre technique soulevés par la détection du calcium. En effet, les quelques observations qui vont suivre immédiatement, ne sont qu'une partie des résultats obtenus dans ce domaine et d'autres résultats plus importants, obtenus également avec ces méthodes, figurent dans le cours du Chapitre VIII relatif aux ostéoblastes.

b) Résultats topographiques.

Comme nous l'avons décrit plus haut, les premières travées osseuses apparaissent à la face inférieure de la membrane basale, juste à la limite entre l'épiderme et le derme, puis elles se détachent de la basale et s'enfoncent vers le milieu du derme, tandis que du tissu conjonctif banal s'infiltre entre la basale sous-épidermique et l'os. Or lorsqu'elles commencent à se former, ces travées osseuses sont constituées uniquement de substance protéique préosseuse. Le calcium n'y apparaît que lorsqu'elles se sont un peu décollées de la basale et qu'elles commencent à s'enfoncer vers le milieu du tissu conjonctif.

Ce dépôt de calcium débute toujours au centre des travées et jamais sur les bords (voir fig. 58). Chacune de ces travées comprend alors une mince zone centrale calcifiée et de chaque côté une zone marginale de substance préosseuse. Puis cette zone centrale s'épaissit et bientôt la limite externe de la partie calcifiée se trouve confondue avec le bord externe de la travée. La limite interne de la partie calci-

fiée, par contre, n'atteint que beaucoup plus tard le bord interne de la nouvelle baguette, car celui-ci, à ce stade, est sans cesse repoussé vers



FIG. 58. — Apparition du calcium au cours de la régénération dans une nageoire pectorale de *Labrus berggylla* Asc. adulte (fixation à l'alcool à 95° ; réaction de Kossa).

o. = ostéoblastes ; t.j. = tissu conjonctif ; z.c. = zone calcifiée ; z.p. = zone préosseuse.

l'intérieur en raison de la croissance en épaisseur. Il se forme en effet de la substance préosseuse nouvelle dans la région où l'os est en con-

tact avec le tissu conjonctif central et sur le bord de laquelle existent de nombreux ostéoblastes alors qu'il n'y en a presque pas sur la face opposée. La calcification s'étend progressivement de la partie centrale déjà calcifiée vers la substance préosseuse nouvelle.

On ne voit d'ailleurs pas de transition entre la substance préosseuse non calcifiée et la substance osseuse chargée de calcium. L'imprégnation calcaire semble se faire brusquement, d'un seul coup. Sur des préparations histologiques ordinaires (hémalum-éosine, Mallory, etc...) et par conséquent non traitées pour la mise en évidence du calcaire, on voit d'ailleurs très bien la limite entre les deux zones, la colorabilité n'étant pas la même dans la région calcifiée que dans celle qui ne l'est pas encore. La substance préosseuse une fois constituée ne reste d'ailleurs jamais très longtemps ainsi et subit assez vite le phénomène de la calcification mais moins vite toutefois que chez les Vertébrés supérieurs où la distinction entre les deux zones n'est plus possible au bout de fort peu de temps.

On peut se demander évidemment si cette substance préosseuse ne renferme pas en réalité, elle aussi, du calcium. Il faut bien en effet que le calcium traverse d'abord la substance préosseuse pour arriver jusqu'au lieu de sa précipitation. Ce calcaire serait alors sous forme soluble et ce n'est que lorsqu'il se transformerait en phosphate tricalcique dans le centre de la travée que nous pourrions le mettre en évidence. Personnellement, j'ai essayé de vérifier cette hypothèse en cherchant à mettre en évidence du calcium soluble, dans la zone préosseuse, par la méthode de RABL à l'oxalate d'ammonium, par la méthode du D^r CRETIN au réactif gallo-formique et par microincinération, mais je n'ai jamais obtenu aucun résultat positif. J'ignore s'il s'agit simplement d'une difficulté technique ou bien si c'est que ce phénomène est totalement différent de ce que nous supposons.

c) Discussion sur les apports de calcium.

Un problème particulièrement important à discuter est la façon dont la zone en cours d'ossification reçoit les matériaux qui lui sont nécessaires. Qu'il y ait ou non, intervention des ostéoblastes, ce dont nous discuterons dans le chapitre VIII, il est à peu près certain que de toute façon, la zone d'ossification reçoit en définitive ces matériaux de la lymphe interstitielle qui la baigne et qui baigne également les ostéoblastes. Ces matériaux existent sous forme dissoute dans le sang, dont la composition a été étudiée par M. FONTAINE chez différentes espèces de Poissons. La plupart des auteurs s'inquiètent de savoir comment le sang et la lymphe s'enrichissent suffisamment en ions $\text{PO}_4^{=}$, Ca^{++} , CO_3H^- et $\text{CO}_3^{=}$ pour permettre finalement la calcification de la substance préosseuse. En ce qui concerne $\text{CO}_3^{=}$ et CO_3H^- , comme le dit ROCHE, ces ions existent partout en grande quantité du fait qu'ils sont déversés constamment par toutes les cellules de l'organisme et par conséquent il n'y a pas de problème. Par contre, d'après POLICARD, l'enrichissement local en ions $\text{PO}_4^{=}$ et Ca^{++} semble plus compliqué.

Ce dernier auteur a montré chez les Vertébrés supérieurs que très souvent la formation de substance osseuse en un point est accompagnée de destruction de la substance osseuse en un autre point de l'organisme généralement voisin, principalement lorsqu'il s'agit comme ici, d'une ossification de réparation ou d'une ossification anormale. J'ai pu moi-même observer des phénomènes tout à fait comparables dans les nageoires en cours de régénération chez les Poissons Téléostéens. Ces phénomènes se produisent principalement dans la partie ancienne du rayon, dans la zone qui se trouve juste au-dessous de la section et où j'ai d'ailleurs décrit (voir : étude histologique de la régénération) des remaniements osseux importants en même temps qu'une décalcification assez forte. A ce niveau il semble y avoir en effet non seulement attaque de l'os par les cellules ostéoblastiques qui seraient autant des agents de résorption osseuse que des agents d'ossification (concordance avec observations de M. PRENANT et de POLICARD), mais aussi départ des sels calcaires qui quittent la substance protéique et se dissolvent dans les humeurs ambiantes ; c'est ce phénomène que l'on appelle « *ostéolyse* ». On ignore exactement par quel mécanisme se produit l'ostéolyse (augmentation de la teneur en CO_2 , ou bien diminution du pH ou encore accroissement de l'activité circulatoire au point considéré... ?) mais en tout cas, POLICARD pense que ce phénomène a pour effet immédiat de libérer du calcium en un endroit voisin de celui où il y en a besoin pour construire de l'os nouveau. C'est ce qu'il appelle « *les mutations calciques locales* ». Elles se rencontrent même, paraît-il, dans l'os normal où contrairement à ce que l'on pourrait penser en raison de la consistance du tissu osseux, une partie du calcium au lieu d'être fixe, subit sans cesse des dissolutions et des reprécipitations, ce qui donne à ce tissu de remarquables propriétés d'adaptation. Il est vraiment étonnant de constater ainsi l'existence de deux phénomènes exactement opposés (résorptions et reconstructions simultanées) dans un territoire aussi restreint.

Cet enrichissement calcique local est-il vraiment indispensable ? Certains le nient. DUBREUIL notamment (1933) le considère comme un phénomène accessoire, susceptible d'intervenir dans des cas d'ossification expérimentale ou pathologique, mais non obligatoire pour déclencher l'ossification, phénomène dans lequel la calcification n'est d'ailleurs qu'une phase, la dernière.

Plus récemment, un autre mode d'enrichissement de la lymphe interstitielle en ions $\text{PO}_4^{=}$ et Ca^{++} a été décrit ; il met en jeu l'intervention d'une diastase, la phosphatase alcaline, et va constituer l'objet du paragraphe suivant.

2. — RECHERCHE HISTOCHIMIQUE DE LA PHOSPHATASE DE L'OS.

a) *Historique.*

Les phosphatases ont été fort peu étudiées jusqu'en 1923, date à laquelle ROBISON découvrit la phosphatase de l'os dans le squelette

des jeunes Mammifères en pleine période de croissance. Depuis, cette phosphatase a été mise en évidence dans les dents et les os de tous les Vertébrés. On la trouve aussi dans le rein, dans l'intestin et dans la glande mammaire.

D'une façon générale, les phosphatases sont des enzymes capables d'hydrolyser les esters de l'acide orthophosphorique, ainsi que ses amides, et les acides pyrophosphorique et métaphosphorique, pour libérer des ions PO_4^- . Il y a donc des phosphoestérases, des phosphoamidases, des pyrophosphatases et des métaphosphatases. La phosphatase des os est une *phosphomonoestérase*, c'est-à-dire que le substrat sur lequel elle agit est formé par les monoesters de l'acide orthophosphorique. Mais d'après FOLLEY et KAY (1936) il y a quatre phosphomonoestérases *isodynames* c'est-à-dire de caractères différents mais de même spécificité. Celle de l'os est appelée *phosphomonoestérase A1*. On la distingue des autres parce que son pH optimum est au voisinage de neuf, c'est-à-dire qu'elle est « *alcaline* », alors que les trois autres agissent dans des conditions de pH bien inférieures et sont pour cela qualifiées de phosphatases « *acides* ». Cette phosphatase alcaline hydrolyse plus rapidement le β -glycérophosphate que l' α -glycérophosphate. Elle est fortement activée par les ions Mg^{++} et un peu par les ions Mn^{++} . Par contre, elle est inhibée par les corps à fonction sulfhydryle-SH (cystéine, glutathion, etc...), par les ions PO_4^- et par les acides biliaires.

D'après ROBISON, cette enzyme agit selon le mécanisme suivant. La lymphe interstitielle qui est en contact avec l'os contient PO_4^- , Ca^{++} et $(\text{PO}_4)^2\text{Ca}^3$ en équilibre, de telle façon que nous avons le produit de solubilité :

$$[\text{PO}_4^-]^2 [\text{Ca}^{++}]^3 = [(\text{PO}_4)^2 \text{Ca}^3] = \text{Cte}$$

Par conséquent toute augmentation de PO_4^- ou de Ca^{++} provoquera immédiatement le dépôt de $(\text{PO}_4)^2 \text{Ca}^3$ dont le milieu était déjà à saturation. Normalement le sang amène bien des ions PO_4^- et Ca^{++} vers les os, mais dans le cas d'une ossification rapide (début de croissance ou réparation osseuse par exemple), cet apport n'est pas suffisant et c'est alors que la phosphatase alcaline intervient localement pour libérer des ions PO_4^- supplémentaires en agissant sur les esters contenus dans le plasma sanguin. Cette augmentation d'ions PO_4^- force alors $[\text{PO}_4^-]^2 [\text{Ca}^{++}]^3$ à dépasser le produit de solubilité et entraîne par conséquent la précipitation de $(\text{PO}_4)^2 \text{Ca}^3$.

ROCHE et ses collaborateurs ont repris en détail et complété cette théorie de ROBISON. Mais ils sont également tous d'accord sur le fait que la phosphatase n'est pas du tout indispensable à l'ostéogénèse ; elle n'agit ni sur la formation, ni sur la fixation des sels de l'os et intervient seulement dans le cas d'ostéogénèse rapide.

Comme nous l'avons dit plus haut, la phosphatase alcaline a d'abord été découverte dans les os de Mammifères (ROBISON, 1923) et sa recherche a été ensuite étendue aux autres classes de Vertébrés. C'est ainsi que S. BODANSKY, R. M. et H. BAKWIN (1931) puis J. ROCHE et E. BULLINGER (1938, 1939) ont montré qu'il existait une phosphatase

dans les os de Poissons et que cette phosphatase était bien la même que celle des Mammifères, c'est-à-dire la phosphomonoestérase A1 de la classification de FOLLEY et KAY. J. ROCHE et J. COLLET (1940) ont ensuite étudié plus en détail cette phosphatase au cours des différentes périodes de croissance et dans les différents os de *Clupea pilchardus*, Téléostéen dont la croissance avait été étudiée préalablement par L. FAGE (1920). J. COLLET a d'ailleurs présenté à la même époque (1940) un travail d'ensemble sur la question des phosphatases chez les Poissons. Enfin, plus récemment, J. BUSER (1948) a étudié, sur les conseils de M. PRENANT, les variations de l'activité phosphatasique des nageoires au cours de la régénération osseuse.

D'une façon générale, la phosphatase des os a surtout été étudiée au point de vue biochimique, si bien que nous n'avons encore qu'une idée assez approchée de sa localisation précise. Dans certains cas, celle-ci a pourtant pu être faite ; c'est ainsi que ROBISON et FELL ont mis cette enzyme en évidence dans la zone des cellules hypertrophiées des cartilages de croissance. Afin d'essayer de préciser les données biochimiques fournies par J. BUSER, j'ai cherché à localiser la phosphatase alcaline sur des coupes histologiques de nageoires en régénération.

b) *Techniques de recherche histochimique de la phosphatase alcaline.*

La méthode de base pour la recherche de la phosphatase alcaline est la réaction de GOMORI (1939, 1941 et 1946). Le principe de cette réaction consiste à faire incuber la coupe, à 37°, pendant un certain temps, dans un mélange de β -glycérophosphate de sodium et de sel de calcium. L'ion phosphorique est précipité sous forme de phosphate de calcium et on visualise ensuite celui-ci par une réaction à l'acétate de cobalt-sulfure d'ammonium. Les lieux d'activité phosphatasique sont alors colorés en noir ou tout au moins en brun-foncé. Le mélange incubateur devant avoir un pH bien déterminé, GOMORI y ajoute un tampon constitué par du véronal sodique. Enfin, il est bon d'y ajouter également du sulfate de magnésium dont on connaît l'action activante vis-à-vis de l'enzyme recherchée.

Il existe évidemment un certain nombre d'autres méthodes, mais toutes dépendent plus ou moins de celle-ci qui est vraiment la méthode de base. Les principales variantes portent soit sur le mode de fixation, soit sur la façon de visualiser le phosphate de calcium précipité. Citons simplement les méthodes de DANIELLI, de KABAT et FURTH, de CAPPELIN et de BOURNE, qui sont parmi les plus connues. Pour éviter les confusions avec le calcium préexistant dans les coupes, on peut aussi utiliser la méthode de GREEN, FISHER et MORSE, ou encore celle de CHRISTOPHE ; de toute façon, la réalisation de coupes témoins est toujours indispensable pour ce genre de travail.

De nombreuses précautions sont à prendre, notamment au point de vue température ; elles ont été très bien résumées par LISON (1948) auquel je renvoie pour les détails.

c) Résultats topographiques.

Les réactions précédentes effectuées sur des régénérats de nageoires de différents Poissons Téléostéens (*Carassius auratus*, *Ameiurus nebulosus*, etc...) montrent qu'il y a bien de la phosphatase alcaline dans les nageoires en régénération. La présence de cette phosphatase avait d'ailleurs été démontrée à l'aide de dosages biochimiques par J. BUSER (1948), mais l'histochemie permet de mieux étudier la répartition de cette phosphatase et de montrer notamment qu'elle n'existe pas que dans l'os.

Dans les nageoires en régénération, l'épiderme est le tissu qui en renferme le plus. Cette phosphatase apparaît en effet dès le début de la régénération dans l'épiderme, alors que les autres tissus n'en renferment encore pas. C'est notamment la zone moyenne de l'épiderme (celle qui est constituée par des cellules écartées les unes des autres) qui en contient le plus.

Le tissu conjonctif n'en renferme pas, ou presque pas, au début de la régénération. Puis il s'enrichit peu à peu en phosphatase et toutes les cellules finissent par en contenir plus ou moins. Ce sont toujours celles qui sont situées dans le conjonctif médian, entre les travées osseuses, qui en possèdent le plus.

En ce qui concerne le tissu osseux, il est à remarquer que les ostéoblastes semblent entièrement remplis par la phosphatase alcaline, et que dans les os eux-mêmes, les parties en formation, non encore calcifiées et constituées simplement par de la matière protéique, renferment également un peu de phosphatase. Ceci confirme les idées de J. ROCHE sur le rôle de cette diastase qui, d'après lui, intervient dans la formation de la substance préosseuse, c'est-à-dire antérieurement à la précipitation calcaire.

Comme on le voit, la recherche histochemie de la phosphatase alcaline ne révèle rien de sensationnel ou d'inattendu, mais confirme simplement ce que nous savons déjà et nous prouve que cette diastase n'intervient pas que dans la formation des os mais aussi dans l'ostéogénèse en général. Par conséquent, lorsque l'on fait un dosage de cette diastase dans une nageoire en régénération, le résultat ne correspond pas toujours uniquement à la phosphatase existant dans l'os, mais comprend aussi la phosphatase des tissus mous voisins où elle peut justement être très abondante à certains moments.

3. — TENTATIVE DE RECHERCHE HISTOCHEMIE DE L'ANHYDRASE CARBONIQUE.

Parallèlement à l'existence d'une phosphatase de l'os intervenant dans l'enrichissement en ions PO_4^- , il me semble logique de penser qu'il doit exister aussi dans l'os de l'anhydrase carbonique, susceptible d'intervenir dans la répartition des ions CO_3^- et CO_3H^- au cours de l'ossification.

En ce qui me concerne, j'aurais voulu essayer de déceler cette

diastase par voie histochimique sur des régénérats de nageoires. Mais il n'existe encore pas de méthode histochimique susceptible de caractériser à coup sûr ce ferment. Les seuls essais que j'ai pu faire ont donc été de rechercher la présence du zinc, métal entrant dans la constitution de la molécule d'anhydrase carbonique et dont l'existence à certains endroits aurait pu m'indiquer indirectement la présence probable d'anhydrase. J'ai utilisé pour cela la méthode de MENDEL et BRADLEY qui consiste à précipiter le zinc par le nitroprussiate de sodium, puis à faire agir un sulfure alcalin après lavage soigné. Toutes mes tentatives sont restées vaines et je n'ai pu déceler la moindre trace de zinc sur mes préparations. Il n'est donc pas possible actuellement de conclure quoique ce soit sur l'existence ou la non-existence de l'anhydrase carbonique dans les tissus dont je me suis occupé ici, mais je suis tenté de croire que si nous disposons un jour d'une méthode sûre et précise pour détecter histochimiquement cette diastase, des résultats intéressants pourront sans doute être obtenus dans ce domaine.

4. — CONCLUSION.

L'étude histochimique de la régénération des nageoires nous a permis de faire quelques constatations relatives principalement à la déposition du calcium et à la répartition de la phosphatase alcaline dans les régénérats. Le premier point surtout nous a donné l'occasion de faire une courte mise au point technique de la question et aussi de confronter les différentes idées qui ont été émises sur la question de l'apport des matériaux nécessaires à l'ostéogénèse. Un autre aspect de ce problème (question de l'intervention des ostéoblastes) sera traité à part dans le chapitre VIII.

CHAPITRE VI.

INFLUENCE DU SYSTÈME NERVEUX
SUR L'OSTÉOGÉNÈSE.

Il est admis que la lésion expérimentale ou pathologique des nerfs provoque des altérations du système osseux chez les Mammifères (élargissement de la cavité médullaire, diminution de l'épaisseur de l'os, décalcification, etc...) et parfois même un développement anormal des os des membres lorsque la lésion se produit chez le jeune. Cependant HERMANN, DREVON et CIER ont déclaré récemment (1949) que le système nerveux n'est absolument pas nécessaire à la fixation osseuse du calcium et que celle-ci est simplement sous le contrôle d'un mécanisme humoral. On ne sait pratiquement rien d'autre sur le rôle du système nerveux dans l'ossification.

A. Action du système nerveux radiaire sur la régénération des lépidotriches.

L'idée m'est venue de me servir de mes expériences d'amputations médianes décrites au début du chapitre V pour envisager quel pouvait être le rôle du système nerveux radiaire dans la régénération des rayons osseux. Pour cela, il suffit de pratiquer à la fois, sur les mêmes rayons, l'amputation de quelques articles médians et l'amputation des articles terminaux des fragments distaux déjà isolés de leur base par la première amputation ainsi que je l'ai déjà expliqué au cours du chapitre V (revoir fig. 47). Dans cette expérience, la continuité des nerfs radiaires a été forcément interrompue en même temps que la continuité osseuse lors de l'amputation médiane. Il suffit donc de veiller à ce que l'orifice pratiqué dans la nageoire ne se referme pas pendant la durée de l'expérience pour être sûr que cette continuité nerveuse ne se rétablisse pas, tout au moins en suivant le trajet normal.

Ceci serait suffisant si les ramifications latérales des nerfs radiaires se juxtaposaient sans jamais se recouvrir, mais deux auteurs, V. VILTER (1938, 1939) et Ch. THIBAUT (1944) ont mis successivement en évidence l'existence d'une innervation tri-segmentaire dans les nageoires des Poissons Téléostéens : chaque nerf radiaire innerve non seulement son propre rayon, mais aussi les deux voisins, par suite

d'un *recouvrement nerveux en surface*. Il y a donc d'après eux, pour chaque rayon, une innervation principale fournie par le nerf radiaire du rayon considéré et une innervation accessoire fournie par les nerfs radiaires des deux rayons encadrants. Par conséquent, la section de trois nerfs radiaires successifs provoque à coup sûr l'énervation complète du rayon central.

On peut s'assurer de cette énévation par l'observation de l'état pigmentaire de la nageoire, car l'apparition à l'état permanent d'une zone de mélanodilatation dans la région dont on a sectionné les nerfs (les animaux étant maintenus constamment sur fond blanc) peut servir comme preuve de l'énervation, car s'il n'en était pas ainsi, la mélanodilatation disparaîtrait rapidement. Personnellement, ce contrôle physiologique de l'énervation d'une partie de la nageoire, bien qu'indirect, me semble préférable aux vérifications que l'on pourrait tenter de faire à l'aide d'injections au bleu de méthylène.

Il est donc possible, en pratiquant des sections assez larges, d'obtenir l'énervation totale de plusieurs rayons de la nageoire et de contrôler ensuite la durée de cette énévation par l'examen de la pigmentation, les animaux étant conservés sur fond blanc. Il faut seulement ne pas tenir compte des résultats concernant les deux rayons extrêmes (c'est-à-dire ceux qui voisinent par un de leur côté avec un rayon entier) et chez qui il n'y a d'ailleurs pas de mélanodilatation continue. Le seul inconvénient de la méthode est que la solidité de la nageoire se trouve fortement compromise par ces amputations et on risque de voir la région située au delà du volet se détacher lorsque l'animal effectue des mouvements trop brutaux, si le volet pratiqué est très étendu.

Néanmoins, j'ai pu constater de cette façon que le système nerveux radiaire n'est pas indispensable à la régénération terminale des rayons osseux des nageoires des Poissons Téléostéens. En effet, ces phénomènes se produisent très bien dans les conditions expérimentales définies ci-dessus.

B. Transplantations d'ébauches de la nageoire caudale.

La paroi du sac vitellin des jeunes Poissons est constituée par une portion de chacun des trois feuillets embryonnaires classiques : ectoderme, mésoderme et endoderme (voir fig. 59). Le mésoderme est lui-même partagé en deux lames, une lame externe accolée à l'ectoderme et appelée somatopleure et une lame interne accolée à l'endoderme et appelée splanchnopleure. Entre ces deux lames d'origine mésodermique se trouve un espace qui correspond à une partie de la cavité coelomique et dans laquelle se trouve du liquide coelomique. La greffe intra-coelomique de MANGOLD, qui est en réalité une transplantation, consiste à introduire le greffon dans le sac coelomique ainsi constitué. Nous avons de cette façon la possibilité d'avoir un greffon bien nourri, situé en dehors de son emplacement habituel et non sou-

mis à l'action des nerfs. Il faut, bien entendu, travailler aussi aseptiquement que possible, en employant notamment des instruments et des récipients stérilisés.

J'ai essayé de pratiquer ainsi des transplantations d'ébauches de nageoire caudale sur des embryons de *Salmo irideus*.

Cette transplantation intra-cœlomique, dont les détails pratiques m'ont été fournis par Ch. DEVILLERS, se réalise de la façon suivante :

Mettre en incubation dans un bac à eau courante et de température sensiblement égale à 10°, des œufs de *Salmo irideus* ayant été fécondés artificiellement. Prendre ces œufs, environ huit jours avant l'éclosion,

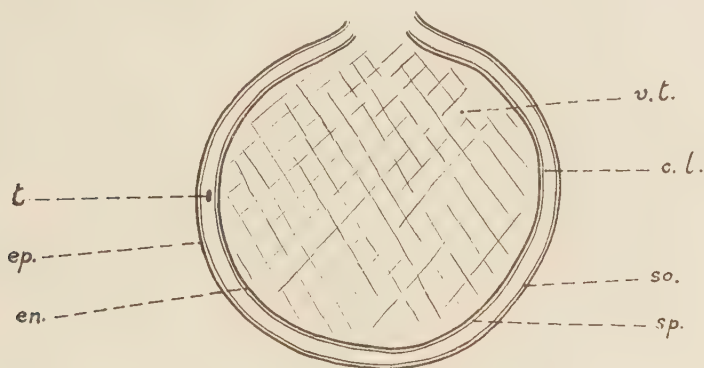


FIG. 59. — Structure schématique du sac vitellin d'un embryon de *Salmo irideus* Gibb.

cl. = coelome ; en. = endoderme ; ep. = épiderme ; s.o. = somatopleure ; s.p. = splanchnopleure ; t. = transplant ; v.t. = vitellus.

les décortiquer avec précaution sous la loupe binoculaire à l'aide de deux paires de pinces brucelles de façon à sortir l'embryon sans le blesser. Prendre deux embryons et les endormir en les passant quelques instants dans une solution de chloréthane à 1 ‰. Les mettre ensuite dans un godet à fond garni de cire à modeler dans laquelle on a creusé au préalable l'empreinte des deux animaux. Ce godet est rempli avec du liquide de Holtfreiter double (1). A l'aide d'un microscalpel formé par un fragment de lame de rasoir emmanché, sectionner sur l'un de ces animaux (donneur) l'ébauche de la nageoire caudale dans laquelle il n'y a encore à ce stade aucune trace de rayon osseux. Toujours sous la loupe binoculaire, on pince avec des pinces fines la surface du sac vitellin du deuxième animal (porte-greffe) et avec le microscalpel ou des ciseaux de Dowell, on fait une légère fente dans la paroi du sac vitellin, de façon à n'inciser que l'épiderme et la

(1) Composition du liquide de Holtfreiter double :

ClNa	7 gr
ClK	0,1 gr
Cl ₂ Ca, 6 H ₂ O	0,2 gr
CO ₂ HNa	0,4 gr
H ₂ O distillée q.s.p.	1000 cm ³

somatopleure ce qui est évidemment le temps délicat de l'opération. Il faut surtout éviter de crever le sac vitellin car cet accident est sans remède. Il faut aussi éviter que le vitellus entouré par l'endoderme et la splanchnopleure ne fasse hernie au dehors par l'orifice pratiqué dans l'enveloppe externe, car l'animal ne pourrait ensuite être conservé bien longtemps dans cet état. Prendre alors le greffon avec une pipette fine et le placer devant la fente pratiquée dans le sac du porte-greffe. Puis avec une aiguille recourbée, fine, souple et non pointue, pousser le greffon à l'intérieur, entre les deux lames mésodermiques, de façon à l'éloigner le plus possible de la fente d'entrée pour qu'il ne risque pas de ressortir tout seul. L'opération étant terminée, on élève ensuite les porte-greffes dans des petits godets individuels avec du Holtfreiter double, ce qui est, je crois, la meilleure façon de les garder en vie.

Il faut, bien entendu, pratiquer de telles transplantations sur un assez grand nombre d'individus pour être sûr d'en garder quelques-uns en vie jusqu'à la fin de l'expérience. En effet, il y a toujours un certain pourcentage de décès occasionnés par des causes diverses (déchirement des feuillets, infection post-opératoire, etc...).

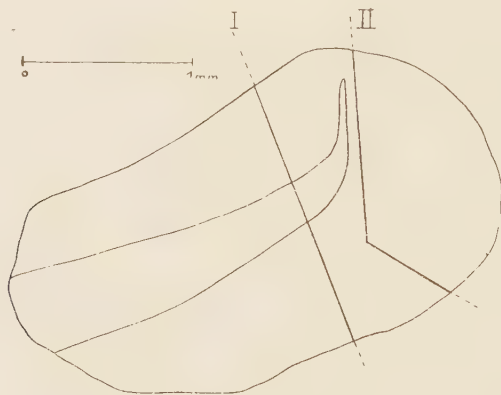


FIG. 60. — Partie postérieure d'un embryon de *Salmo irideus* Gibb., huit jours avant l'éclosion, montrant le niveau des sections effectuées dans les expériences de la série I et de la série II.

J'ai réalisé de cette façon un certain nombre de transplantations d'ébauches de la nageoire caudale dans la paroi du sac vitellin d'embryons de *Salmo irideus*, environ huit jours avant l'éclosion, en prenant la précaution, avant de pratiquer l'opération, de m'assurer, sur un certain nombre d'animaux sacrifiés comme témoins, que les ébauches de nageoires caudales ne contenaient absolument aucune trace de rayon osseux à ce stade (voir fig. 64). Dans certaines expériences (série I), la section a été réalisée de façon que l'ébauche à greffer renferme l'extrémité de la moelle épinière, tandis que dans les autres expériences (série II) la section a été faite au contraire au delà de la terminaison de l'axe nerveux de façon à éviter toute intervention pos-

sible de celui-ci (voir fig. 60). Dans les deux cas, les résultats ont été exactement les mêmes. Les embryons porteurs de tels greffons ont vécu pendant quelques temps dans le liquide de Holtfreiter double ; je n'ai cependant pu en garder dans ces conditions pendant plus de

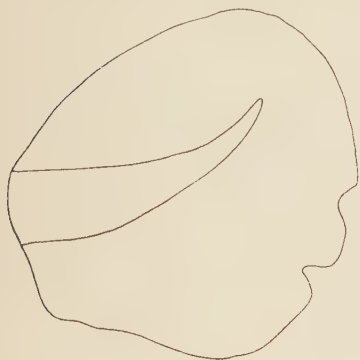


FIG. 61.



FIG. 62.



FIG. 63.

FIG. 61, 62 et 63. — Transplantation d'ébauche de la nageoire caudale chez l'embryon de *Salmo irideus* Gibb. — Série I.

61 = Ebauche transplantée depuis trois jours.

62 = Ebauche transplantée depuis neuf jours.

63 = Partie de la figure précédente (62) vue à un plus fort grossissement.

dix jours. Mais cette période a été suffisante pour me permettre d'en sacrifier à différents moments, de rechercher le greffon dans la paroi du sac vitellin et de voir ce qu'il était devenu. J'ai pu ainsi étudier ces greffons, soit par simple transparence, soit après traitement in toto par le nitrate d'argent à 5 % selon Kossa, soit même au moyen de coupes histologiques. Les observations que j'ai pu faire sur ces greffons nourris uniquement par l'intermédiaire du liquide coelomique sont les suivantes :

Les premiers jours après l'opération, le greffon ne présente rien d'autre qu'une légère déformation des contours généraux (voir fig. 61). Puis au bout de six à sept jours apparaissent brusquement les pre-

nières traces de rayons osseux (voir fig. 62, 65 et 66). Ces rayons ne sont évidemment constitués, à ce stade, que par une portion de leur

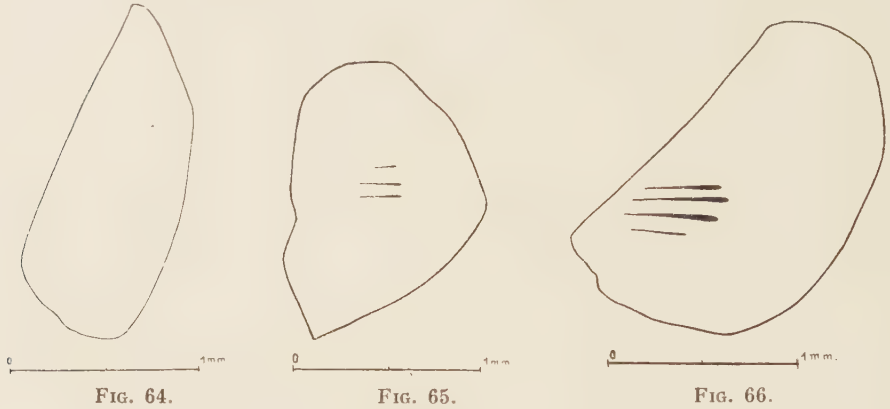


FIG. 64, 65 et 66. — Transplantation d'ébauche de la nageoire caudale chez l'embryon de *Salmo irideus* Gibb. — Série II.

64 = Témoin, avant la transplantation.

65 = Ebauche transplantée depuis huit jours.

66 = Ebauche transplantée depuis neuf jours.

article basilaire, mais ceci est normal et il en est de même dans la véritable nageoire caudale du porte-greffe. Ces ébauches sont effilées



FIG. 67. — Embryon de *Salmo irideus* Gibb. porteur d'un transplant. Imprégnation du transplant et de la nageoire caudale du porteur par le nitrate d'argent.

t. = transplant.

à leur partie proximale et renflées en forme de massue dans leur région distale (voir fig. 63). Ce sont les rayons médians qui se forment les

premiers. Les débuts de rayons formés ainsi dans le greffon se calcifient presque immédiatement et apparaissent colorés en noir par la réaction argentique de von Kossa pratiquée *in toto* (voir fig. 68). J'ai pu observer ainsi la formation et la calcification de plusieurs rayons osseux (jusqu'à cinq) dans les greffons, ces phénomènes se produisant à peu près en même temps dans la nageoire greffée et dans la nageoire caudale normale du porte-greffe (fig. 67). Au point de vue histologique, les rayons du greffon apparaissent à ce stade comme de minces bandes ostéoides, à peine détachées de la membrane basale sous-épidermique, et semblent se former exactement de la même façon que les rayons ordinaires.



FIG. 68. — Embryon de *Salmo irideus* Gibb. porteur d'un transplant.
Imprégnation de celui-ci par le nitrate d'argent.

t. = transplant.

Ces expériences m'incitent à penser que le système nerveux n'intervient pas, au moins dans les premiers stades de la formation et de la calcification des rayons de nageoires, car les greffons en question ne sont évidemment plus innervés depuis le moment où ils ont été détachés du corps du donneur (surtout lorsque ce sont des greffons qui ne contiennent aucune trace de moelle épinière). Seuls des phénomènes humoraux peuvent donc être mis en cause, comme le pensent par ailleurs HERMANN, DREVON et CIER (1949) à propos des os du Rat.

Ceci confirme donc pleinement ce que j'ai écrit plus haut (chapitre V) à propos des extrémités distales de rayons osseux qui, isolées expérimentalement de la base de la nageoire chez des Poissons adultes, conservent cependant leur intégrité, continuent à croître dans cette situation et conservent même leurs possibilités de régénération le cas échéant.

CHAPITRE VII.

BLOCAGE DE L'OSSIFICATION EN HIVER
CHEZ LES POISSONS TÉLÉOSTÉENS.

I. — Généralités.

Les Poissons sont, comme chacun le sait, des *hétérothermes*, c'est-à-dire des animaux dont la température est variable et à peu près égale à celle de l'eau dans laquelle ils vivent. Ce caractère physiologique présente un avantage : c'est que les besoins énergétiques de ces animaux sont assez minimes et qu'ils n'ont, par conséquent, pas besoin de s'alimenter énormément pour subsister. Mais il présente, d'autre part, un inconvénient important : c'est que la croissance, qui ne peut se faire que dans certaines conditions, se trouve très ralentie pendant l'hiver et parfois même arrêtée complètement. Chez les Poissons, la croissance en général et plus particulièrement la croissance des os constitue donc un phénomène saisonnier où alternent des périodes d'activité et des périodes de repos plus ou moins complet. Nous savons tous que ceci se traduit, dans la structure de certains organes, par la formation périodique de zones concentriques. LEEUWENHOEK (1696) en a montré un exemple devenu maintenant classique avec les écailles cycloïdes de Téléostéens, que l'on a comparées depuis à un tronc d'arbre vu en coupe transversale. Chaque écaille est formée par une série d'anneaux concentriques, les zones larges et claires correspondant à des tissus formés en été et les zones étroites et sombres à des tissus formés en hiver, ce qui permet, entre autres, de calculer approximativement l'âge de l'animal. Les trois otolithes calcaires du saccule de l'oreille interne (*lapillus*, *astericus* et *sagitta*) présentent une structure annulaire tout à fait comparable bien que moins connue.

Or au cours d'expériences sur la régénération des rayons osseux des nageoires faites à différentes périodes de l'année, je me suis aperçu que la réparation des rayons amputés ne se faisait que pendant une partie de l'année (de mars à novembre environ) et était interrompue pendant l'hiver. J'ai donc pensé que la réparation des nageoires amputées était, comme la croissance normale des nageoires, soumise au même phénomène de périodicité. J'ai alors cherché, en collaboration avec J. BUSER, à préciser la question en considérant la régénération osseuse des rayons amputés expérimentalement comme un test de l'ostéogénèse, c'est-à-dire comme une preuve que l'ostéogénèse est

possible ou impossible dans les conditions du moment. Le but ultime de ces expériences était en réalité pour moi de rechercher ensuite s'il n'y avait pas dans les tissus osseux des variations d'ordre histologique (au niveau des ostéoblastes notamment) allant de pair avec ces interruptions et ces reprises de l'ostéogénèse (objet du chapitre VIII). Celui de J. BUSER était, par contre, d'étudier ensuite le déterminisme endocrinien de la régénération.

2. — Existence d'un cycle annuel.

Les expériences que nous avons faites en commun ont porté sur des Poissons-Chats, *Ameiurus nebulosus*, dont les nageoires ont été sectionnées à quelques millimètres de leur base. J'ai de plus, de mon côté, pratiqué quelques expériences complémentaires sur *Gardonus rutilus*, *Tinca tinca*, *Phoxinus phoxinus*, *Gobio gobio* et *Cobitis barbatula*. Les mêmes faits ont été observés plusieurs années de suite (hiver 1946-1947, 1947-1948 et 1948-1949). Des résultats très comparables ont été enregistrés dans tous les cas. Je ne ferai que les résumer ici.

L'époque où la régénération osseuse cesse d'être possible se place vers la fin de novembre (entre le 15 novembre et le 10 décembre selon les hivers) et celle où elle reprend dans le courant de mars. Pendant toute cette période, la cicatrisation se produit mais les phénomènes en restent là. Au printemps, lorsque ce blocage cesse, non seulement les nageoires fraîchement sectionnées, mais également celles qui ont été sectionnées au début de l'hiver et qui s'étaient seulement cicatrisées à ce moment, se mettent à régénérer sans qu'il soit nécessaire de recouper celles-ci. Dans les conditions optima, la régénération de l'os se manifeste nettement au bout de trois semaines à un mois chez *Ameiurus nebulosus*. J'ai longuement décrit dans le chapitre V comment s'opérait cette régénération.

Nous avons commencé par chercher si les modifications des conditions extérieures avaient un rapport avec cet arrêt de la régénération pendant l'hiver. Le premier facteur dont il nous a paru utile d'étudier l'action est évidemment le facteur température.

3. — Action de la température.

a) CONSTATATIONS.

Au cours de l'année, on peut observer d'importantes variations de la température de l'eau : par exemple, en prenant régulièrement la température de l'eau de nos aquariums pendant l'année 1947-1948, nous avons pu constater que cette température avait varié entre 10° et 25°. Or la période où la régénération se trouve arrêtée concorde avec la période où la température de l'eau est basse. Nous avons cons-

taté ainsi, qu'à la fin de l'automne, l'époque où la régénération osseuse cesse de se produire coïncide exactement avec celle où la température de l'eau descend en dessous de 17°. De même au début du printemps, le moment où la régénération redémarre coïncide avec celui où la température de l'eau redevient supérieure à 17°. Au dessous de 17°, nous n'avons jamais observé de régénération osseuse chez *Ameiurus nebulosus*, alors qu'au-dessus de cette température la régénération a toujours lieu. Par contre chez des poissons exotiques, tels que *Goodea atripinnis* ou *Gambusia affinis*, qui sont conservés en permanence dans des aquariums chauffés à 22-24°, la régénération est possible toute l'année sans interruption. De plus, M. GALLIEN m'a signalé personnellement qu'en plein hiver, dans des aquariums chauffés à 22-24°, des femelles de *Lebistes reticulatus* que l'on masculinise expérimentalement, acquièrent un gonopode, ce qui implique évidemment une croissance des rayons osseux.

b) ACTION EXPÉRIMENTALE DE LA CHALEUR EN HIVER.

Nous avons ensuite réalisé les expériences suivantes :

Pendant la période d'hiver, nous avons chauffé des aquariums contenant des Poissons-Chats dont les nageoires avaient été sectionnées un peu au-dessus de leur base. À l'aide de résistances électriques, nous avons pu avoir des aquariums à diverses températures. Les animaux qui se trouvaient dans des bacs chauffés au-dessus de 17° ont régénéré leurs rayons osseux en plein hiver, les autres non. Il semble donc bien y avoir un rapport de cause à effet entre la température et la régénération osseuse. En tout cas, il y a un seuil de température au-dessous duquel la régénération osseuse ne se produit pas, ce seuil étant situé aux environs de 17° pour *Ameiurus nebulosus*.

Nous avons d'ailleurs pu constater également dans cette même série d'expériences qu'au delà de 17°, plus la température est élevée, plus la régénération se produit rapidement. Par exemple, la régénération se manifeste déjà au bout de douze à quinze jours chez les animaux chauffés à 25° et au bout de huit jours chez les animaux chauffés à 30°, alors que normalement il faut compter trois semaines à un mois ainsi que nous l'avons dit plus haut. Au delà de 30° il n'est plus possible de continuer ces expériences, les Poissons-Chats ne pouvant plus vivre dans de telles conditions.

Il faut considérer à part le cas du rayon épineux qui, chez *Ameiurus nebulosus*, constitue le premier rayon de la nageoire dorsale et des nageoires pectorales. En effet, ce rayon épineux a un seuil beaucoup plus élevé que les rayons mous ordinaires et nous n'avons pu obtenir sa régénération que dans les aquariums chauffés au moins à 25°. Ceci explique le fait que dans les aquariums témoins, le rayon épineux régénère plus difficilement que les rayons mous, et que sa régénération est beaucoup plus longue à se déclencher.

c) GÉNÉRALISATION DU PHÉNOMÈNE.

Cette action de la température sur l'ostéogénèse réparatrice chez les Poissons Téléostéens ne nous a pas surpris outre mesure, car d'autres auteurs ont déjà signalé l'action de la température sur la régénération dans d'autres groupes d'animaux, notamment chez les Batraciens, les Coelentérés et les Planaires. C'est ainsi par exemple que J. MILLOT (1931, 1940) signale que chez les têtards de Batraciens il n'y a pas de réparation lorsque la température de l'eau est de 10°, tandis que si la température de l'eau augmente, la régénération a lieu et la vitesse de celle-ci augmente avec la température ; mais à partir de 28°, la température devient à nouveau défavorable.

Pour certains auteurs, il y a non seulement deux températures extrêmes limitant les possibilités de régénération, mais également une température optima pour cette régénération. C'est ainsi que PEEBLES (1898) prétend que chez *Hydra viridis* la régénération est possible entre 12° et 32°, mais qu'il y a un optimum vers 26°. De même, LILLIE (1897) indique que la régénération est possible chez *Planaria torva* entre 3° et 33° mais qu'il y a un optimum vers 29°. Par contre, d'autres auteurs déclarent qu'il n'existe pas d'optimum. ABELOOS, par exemple, qui a étudié (1930) l'action de la température sur la régénération chez *Planaria gonocephala*, a montré, au cours d'expériences faites entre 5° et 20°, que la vitesse de régénération augmente avec la température jusqu'à ce que l'on atteigne une température mortelle pour l'espèce considérée. C'est bien ce que nous avons constaté ici dans le cas d'*Ameiurus nebulosus* chez qui la régénération semble possible de 17° à 30° environ, sans optimum.

En ce qui concerne la façon dont agit la température sur la régénération, ABELOOS (1927) pense que la température agit surtout sur la durée du phénomène, car, d'après lui, seul le temps de la régénération est modifié, tandis que la nature intime du phénomène et le résultat final restent inchangés. Par exemple, sur *Planaria gonocephala*, ABELOOS montre que la chute du poids qui accompagne la régénération est indépendante de la température. Celle-ci agirait d'après lui comme un simple catalyseur, modifiant la vitesse, mais non la nature intime du phénomène de régénération, ni le résultat final de celle-ci. En ce qui concerne la régénération des nageoires chez les Poissons Téléostéens chauffés à différentes températures, je dois signaler qu'en effet lorsque la régénération a lieu, quelle que soit sa vitesse, les phénomènes histologiques qui se produisent au sein même de la nageoire en expérience sont toujours les mêmes et J. BUSER a pu constater de son côté au moyen de dosages que les phénomènes biochimiques sont eux-mêmes analogues, la question de vitesse étant mise à part.

d) ACTION EXPÉRIMENTALE DU FROID EN ÉTÉ.

Pour en finir avec ces questions de température, nous avons pensé qu'après avoir déclenché expérimentalement la régénération par la

chaleur pendant la saison où elle est normalement impossible, il était indispensable d'essayer l'expérience contraire, qui consiste à bloquer expérimentalement la régénération par le froid pendant la saison où normalement elle se fait. Ne disposant pas de chambre froide, nous avons été obligés de nous servir d'un frigidaire, ce qui nous a forcé à utiliser des récipients de petites dimensions et sans eau courante pour loger nos Poissons en expérience.

Dans ces conditions un peu précaires, il nous a été assez difficile de garder longtemps les animaux en vie, mais nous avons tout de même pu constater que si on maintient, en été, un poisson amputé d'une portion de ses nageoires, à une température assez basse (l'eau étant à environ $+5^{\circ}$ dans le frigidaire), la régénération ne se produit pas, alors qu'elle se produit très bien chez les animaux témoins. Nous avons de plus constaté que la cicatrisation ne se produit pas dans ces conditions.

C'est alors que nous avons pensé qu'il fallait peut-être tenir compte d'un autre facteur, le facteur lumière, car nos animaux placés ainsi dans ce frigidaire étaient dans l'obscurité.

4. — Action de l'éclairement.

a) ACTION EXPÉRIMENTALE DE LA LUMIÈRE EN HIVER.

Dans une nouvelle série d'expériences, nous avons voulu voir si la lumière, autre facteur dont l'intensité et la durée d'action varient au cours de l'année et notamment diminuent pendant la saison hivernale, n'intervient pas aussi et si ce n'est pas l'absence de lumière au lieu du froid qui a empêché la régénération de se faire dans les expériences précédentes où nous avons utilisé un frigidaire obscur.

Pour cela, des animaux dont les nageoires viennent d'être sectionnées à quelques millimètres de leur base, sont placés en hiver, c'est-à-dire pendant l'époque où la régénération n'a normalement pas lieu, dans un aquarium éclairé en permanence par une ampoule électrique de 75 watts, l'eau de l'aquarium étant renouvelée et aérée soigneusement de façon que la température ne monte pas sous l'effet de la lampe. Au bout d'une semaine, la cicatrisation est terminée. La régénération osseuse commence alors dès la deuxième semaine. Si l'on place dans les mêmes conditions, des animaux dont les nageoires ont été sectionnées il y a déjà un certain temps et chez qui, par conséquent, la cicatrisation est déjà faite, la régénération osseuse commence alors presque immédiatement. Pendant ce temps des animaux témoins placés dans des aquariums non éclairés, présentent à peine un début de cicatrisation et aucune trace de régénération n'est visible chez eux, même plusieurs semaines après l'amputation.

b) ACTION EXPÉRIMENTALE DE L'OBSCURITÉ EN ÉTÉ.

Nous avons ensuite cherché à réaliser la contre-expérience qui consiste à placer au début de l'été (et avant que les glandes génitales deviennent actives, nous verrons pourquoi plus loin) des Poissons-Chats dont les nageoires ont été amputées de leur partie terminale, dans des aquariums complètement obscurs (pour cela, il suffit de mettre les aquariums dans une chambre noire, ou tout simplement de revêtir les différentes faces de l'aquarium, y compris le couvercle, d'un papier noir épais qui ne laisse passer aucun rayon lumineux). Dans ces conditions, la régénération a quand même lieu, tout comme chez les témoins.

Cette dernière expérience est à rapprocher de celle que nous avons signalé plus haut sur l'action du froid en été en conservant des Poissons-Chats au frigidaire. Dans cette expérience, les facteurs froid et obscurité étant mêlés, il pouvait rester un doute. Or c'était bien le froid qui était cause de l'arrêt de la régénération en été, puisque, comme nous le voyons maintenant, l'obscurité seule n'empêche pas la régénération de se faire.

5. — Conclusion : Rôle des glandes endocrines.

En somme, ces quelques expériences se résument de la façon suivante :

On peut déclencher expérimentalement la régénération en hiver par action de la chaleur ; de même on arrive à la bloquer en été par action du froid. Par contre, avec la lumière on peut arriver aussi à déclencher la régénération en hiver, mais on ne peut pas arriver à l'arrêter par simple action de l'obscurité en été.

Avec J. BUSER nous avons pensé que ces modifications des conditions externes agissaient sur l'ostéogénèse indirectement, par l'intermédiaire des glandes endocrines, notamment de la thyroïde, de l'hypophyse et des glandes génitales (les parathyroïdes sont encore absolument inconnues actuellement chez les Téléostéens). Nous avons pu observer, J. BUSER et moi, que l'arrêt ou la reprise de la régénération osseuse s'accompagnait de modifications plus générales de l'organisme. Sans entrer dans les détails de cette question que J. BUSER s'est chargée d'étudier je rappellerai simplement, à titre d'exemple, les variations de l'activité thyroïdienne en fonction de la température et les variations d'activité des gonades en fonction de l'éclairement, variations que nous avons décrites en collaboration dans deux notes préliminaires (1949).

Ceci n'est pas surprenant, car d'après les travaux récents de BENOIT et CLAVERT (1948) sur l'ostéogénèse chez les Oiseaux, la thyroïde agirait sur l'ossification de façon indirecte, en favorisant la for-

mation de la matière protéique osseuse. De même en 1941, BENOIT et ses collaborateurs, en soumettant des Canes impubères à un éclairage artificiel, ont obtenu le développement des ovaires ainsi que des modifications osseuses et une augmentation de la calcémie.

J. BUSER a repris alors sur des *Gambusia* et sur des Poissons marins, au Laboratoire de Banyuls-sur-Mer, les premières expériences que nous avons effectuées ensemble à Paris sur des Poissons d'eau douce, et ses résultats confirment les précédents. De plus, pour compléter nos premières données sur le rôle joué par les glandes endocrines dans l'ossification chez les Poissons Téléostéens, J. BUSER a entrepris une série de recherches comportant l'injection de produits hormonaux variés (thyroxine, stérandryl, benzo-gynestryl, hormone hypophysaire thyrotrope, hormone hypophysaire gonadotrope, etc...) ainsi que la suppression opératoire des glandes étudiées, lorsqu'il est possible de le faire comme c'est le cas pour l'hypophyse ou les glandes génitales. En ce qui concerne la thyroïde des Téléostéens, rappelons en effet que son état diffus ne permet pas d'en pratiquer l'extirpation et qu'il ne peut alors être question que d'injections de produits anti-thyroïdiens tels que l'aminothiazol, la thiourée ou la prégnéninolone (J. BUSER, 1950). Je renvoie donc aux publications et à la thèse récente de J. BUSER pour tous les détails concernant le rôle des glandes endocrines sur l'ostéogénèse réparatrice.

Pour ma part, j'ai essayé de voir si ces observations et ces expériences sur le blocage et le déclenchement de l'ostéogénèse ne se traduisaient pas par certaines variations d'ordre histologique au sein des tissus osseux. Cela m'a conduit à étudier, de façon détaillée, les ostéoblastes et à envisager notamment la possibilité de leur intervention dans les phénomènes de calcification (voir chapitre suivant).

CHAPITRE VIII.

ÉTUDE DÉTAILLÉE DES OSTÉOBLASTES.

Nous avons vu plus haut, qu'au cours de la formation du squelette chez les Poissons Téléostéens, nous avons toujours un stade où l'os est formé par du tissu ostéoïde bordé de cellules appelées *ostéoblastes*. Puis chez un certain nombre de familles, ces ostéoblastes sont ensuite incorporés par la substance fondamentale et deviennent alors des *ostéocytes* tandis que chez les autres familles, l'os demeure toute la vie à l'état ostéoïde et les ostéoblastes ne sont jamais incorporés (voir Chapitre IV). L'étude détaillée des ostéoblastes semble particulièrement intéressante à effectuer à différents moments du cycle naturel annuel décrit dans le chapitre précédent, ainsi que sur des Poissons chez qui l'ostéogénèse a été bloquée ou au contraire déclenchée expérimentalement.

1. — Historique et Généralités.

L'origine des ostéoblastes a été longtemps très discutée. KLAATSCH leur attribua d'abord une origine ectodermique. D'après lui, les ostéoblastes résulteraient de la migration de cellules épithéliales dans le tissu conjonctif, à certains niveaux, notamment au niveau des neuro-mastes. Mais plusieurs auteurs, dont HARRISSON (1895), SCHLEIP (1904), STEPHAN (1900), NARDI (1935) et plus récemment Ch. DEVILLERS (1945), s'élevèrent contre cette opinion et montrèrent que les aspects de migration ne pouvaient être qu'une apparence due à l'obliquité des coupes et qu'il n'y avait aucune continuité réelle entre les cellules épithéliales et les cellules mésenchymateuses.

Actuellement, il semble donc bien établi que les ostéoblastes ont une origine mésodermique. Mais il reste alors à savoir si ce sont des cellules dérivées des fibroblastes par évolution ou bien s'il s'agit d'une espèce cellulaire différente de celle des fibroblastes. POLICARD et BOUCHARDAT (1926), ainsi que LERICHE et POLICARD (1926), sont d'accord pour penser qu'il ne s'agit que de fibroblastes ordinaires ayant été modifiés par les conditions du milieu ; en effet, lorsqu'ils cultivent du périoste *in vitro*, ce tissu redonne, paraît-il, exclusivement naissance à des cellules conjonctives banales. D'autre part, FLORENTIN (1935) en implantant expérimentalement, dans le derme, des fragments

de gélatine calcifiée, obtient une différenciation de cellules conjonctives en ostéoblastes.

Mais DOLSCHANSKY (1929) observe dans ses cultures *in vitro* non seulement une prolifération de fibroblastes, mais aussi d'ostéoblastes, avec des caractéristiques différentes pour ces deux sortes de cellules et durables pendant tout le temps de l'expérimentation. D'après B. EPHRUSSI (1932), A. FISCHER aurait obtenu les mêmes résultats que DOLSCHANSKY non seulement pour les ostéoblastes, mais aussi pour les chondroblastes. Enfin PARKER (1929) peut distinguer, lui aussi, de façon durable les deux sortes de cellules en se basant sur les différences de croissance de ces deux catégories cellulaires dans des milieux pourtant identiques. D'après ces auteurs, on aurait donc affaire, avec les ostéoblastes, à une espèce cellulaire spéciale, différente des fibroblastes.

Un autre problème fort discuté est celui du rôle des ostéoblastes dans l'ostéogénèse. Des auteurs déjà anciens ont attribué un rôle fondamental à ces ostéoblastes au cours des processus d'ossification et ont mis sur pied ce que l'on appelle « *la théorie cellulaire de l'ostéogénèse* », théorie selon laquelle la substance fondamentale de l'os serait sécrétée par les ostéoblastes. Parmi ces auteurs, il y en a même, tels que WALDEYER (1865) qui vont jusqu'à considérer la substance fondamentale comme l'exoplasme, c'est-à-dire le cytoplasme externe des ostéoblastes. La théorie cellulaire de l'ostéogénèse a d'ailleurs été reprise en partie par DUBREUIL plus récemment.

A cette théorie s'oppose la théorie plus récente connue sous le nom de « *théorie humorale de l'ostéogénèse* ». Elle est principalement défendue par LERICHE et POLICARD et par ROCHE et ses élèves. D'après ces auteurs, les ostéoblastes n'interviennent pas, ou seulement d'une manière très indirecte, au cours de la formation des lamelles osseuses et la substance fondamentale déposée ainsi, indépendamment des ostéoblastes, n'est qu'une « *transformation progressive et envahissante de la substance fondamentale du tissu conjonctif* » (LERICHE et POLICARD, 1918). Elle se charge ensuite de sels calcaires par un phénomène physico-chimique tout à fait banal. POLICARD et ROCHE (1937), dans une mise au point d'ailleurs fort intéressante, nient absolument toute intervention des ostéoblastes dans l'élaboration du calcium osseux. Ils admettent tout au plus la possibilité, pour ces cellules, de sécréter des ferments à action favorable sur les phénomènes de l'ostéogénèse, et encore n'est-ce là qu'une supposition non confirmée.

Les arguments classiques favorables à la première théorie sont les suivants :

a) les tissus osseux normaux en voie de formation possèdent toujours des ostéoblastes.

b) les ostéoblastes apparaissent toujours avant les premières lamelles osseuses au cours du développement.

c) leur apparition est invariablement suivie peu de temps après par la formation d'os.

Par contre, les arguments avancés par les partisans de la seconde théorie sont que :

a) le dépôt calcaire commence toujours à se faire à partir du centre des travées osseuses et jamais à partir de la périphérie.

b) ce dépôt semble se faire par précipitation progressive et non par apposition.

c) jusqu'à ce jour il n'a pas été possible de distinguer des granulations d'origine calcaire dans les ostéoblastes.

2. — Matériel utilisé.

Pensant que les difficultés rencontrées jusqu'ici pour l'interprétation des ostéoblastes étaient peut-être dues à une question de choix du matériel utilisé et espérant que mon matériel serait favorable pour une telle étude et me permettrait d'apporter quelques observations nouvelles en faveur de l'une des deux thèses précédentes, j'ai essayé de travailler la question du rôle des ostéoblastes en utilisant des os de membrane et des os de cartilage en croissance normale (alevins de *Salmo irideus*), ainsi que des os de membrane en régénération (lépidotriches), à différents stades et à différentes périodes de l'année. Ce sont les os de membrane, et principalement les rayons de nageoires en régénération, qui m'ont permis de faire les observations les plus intéressantes, ce matériel s'étant révélé particulièrement favorable pour ce genre de travail ainsi que nous le verrons plus loin. Par contre les os de cartilage ne m'ont rien révélé sur ce sujet, probablement à cause de la plus grande complexité des phénomènes. Les recherches ont été faites sur différents Poissons, notamment chez les Labridés pour le tissu ostéoïde et chez les Siluridés pour le tissu osseux véritable.

3. — Observations personnelles.

a) APPARITION DES OSTÉOBLASTES.

Au point de vue formation des os, qu'il s'agisse du tissu osseux véritable ou du tissu ostéoïde, les éléments cellulaires qui peuvent être mis en cause sont évidemment les ostéoblastes, car les ostéocytes, lorsqu'il y en a, n'apparaissent jamais avant un stade assez avancé (voir Chapitre IV). De plus ce sont des cellules qui semblent relativement peu actives, tout au moins chez les Téléostéens, et à qui on peut tout au plus attribuer un rôle trophique de l'os déjà constitué.

Les ostéoblastes dérivent de cellules conjonctives jeunes et de forme primitivement arrondie, venues se grouper dans les futures zones d'ossification avant que l'os fasse son apparition. Je puis confirmer en effet qu'ils apparaissent toujours avant les premières travées osseuses (voir fig. 49). On peut même dire que leur apparition caractérise en quelque sorte un des tout premiers stades de l'ostéogénèse.

Au cours des chapitres précédents, j'ai décrit plusieurs exemples d'ossification chez les Poissons Téléostéens. Mais que ce soient des os de membrane ou des os de cartilage, qu'il s'agisse d'ostéogénèse normale (Chapitre III) ou d'ostéogénèse réparatrice (Chapitre V), les phénomènes concernant l'apparition des ostéoblastes sont toujours identiques. Dans tous les cas, l'apparition de la substance osseuse suit toujours et ne précède jamais la naissance des ostéoblastes. Cette substance préosseuse se dépose entre les ostéoblastes ainsi apparus et un support conjonctif qui varie suivant les cas (fibres collagènes, membrane sous-épidermique, pièce cartilagineuse, os préexistant, etc...).

b) EVOLUTION DES OSTÉOBLASTES. DIFFÉRENTS ASPECTS FONCTIONNELS.

L'évolution des ostéoblastes est particulièrement intéressante et facile à suivre au cours de l'ostéogénèse des os de membrane.

Nous assistons tout d'abord à une accumulation de petites cellules rondes d'origine conjonctive. Puis ces cellules augmentent énormément de taille et leur noyau devient très volumineux et très colorable. Ce sont ces cellules qui se transforment peu à peu en ostéoblastes. A ce moment l'os apparaît sous forme de substance préosseuse, s'accroît rapidement et commence à se calcifier. Tandis que la pièce squelettique est en train de se constituer, sa surface est recouverte par des ostéoblastes volumineux et très rapprochés les uns des autres. Ils sont munis d'un gros noyau, généralement placé à un pôle de la cellule, et muni d'un nucléole très apparent. Leur cytoplasme est basophile et semble plaqué contre la surface de la travée osseuse.

Puis l'ostéogénèse se ralentit et ces cellules perdent de leur importance. Les ostéoblastes s'espacent les uns des autres, se raréfient et perdent leur forme globuleuse pour s'aplatir peu à peu contre le bord de l'os (cas du tissu ostéoïde) ou bien sont incorporés dans la substance même de l'os (cas du tissu osseux véritable). Rappelons en effet que c'est à partir des ostéoblastes que les ostéocytes tirent leur origine et que j'ai décrit plus haut (Chapitre IV) le passage des ostéoblastes aux ostéocytes par incorporation des cellules dans la substance fondamentale osseuse au cours de la genèse du tissu osseux classique. De toute façon, qu'il y ait ou non incorporation, on a affaire, à partir de ce moment, à des cellules qui semblent avoir perdu une grande partie de leur activité. Un certain nombre d'ostéoblastes disparaissent d'ailleurs à ce moment-là.

D'une façon générale lorsque l'ostéogénèse est achevée ou bien lorsqu'elle est bloquée, soit naturellement, soit expérimentalement (voir les conditions exposées au chapitre VII), les ostéoblastes sont peu nombreux, espacés les uns des autres et toujours de petite taille. Ils ont alors une forme allongée et sont rangés parallèlement à la substance osseuse formée antérieurement. Tous les aspects de transition entre la phase d'activité intense et la phase de repos sont évidemment possibles.

Un dernier renseignement sur les capacités des ostéoblastes chez

les Poissons Téléostéens nous est fourni par l'étude des régressions et des remaniements osseux. J'ai pu observer en effet, ainsi d'ailleurs que M. PRENANT (1938), dans certains os en partie décalcifiés, l'existence d'ostéoblastes situés dans des fissures ou des poches pratiquées dans



FIG. 69. — Nageoire pectorale de *Labrus berggylta* Asc. Activité destructrice des ostéoblastes dans un rayon amputé de sa partie terminale.

o. = ostéoblastes ; s. = substance ostéoïde ; t.j. = tissu conjonctif.

la substance osseuse et qui semblent avoir surtout un rôle destructeur de l'os (voir fig. 69). J'en ai décrit notamment un exemple au cours du chapitre V (partie B). Nous avons donc là un aspect curieux de l'activité des ostéoblastes, activité destructrice cette fois et comparable, je le rappelle, à celle des odontoblastes observée par P. BUDKER dans les dents cutanées des Sélaciens (1938). Je dois cependant signaler une différence entre les ostéoblastes des Téléostéens et les odontoblastes des Sélaciens décrits par P. BUDKER. Alors que cet auteur a pu mettre

facilement en évidence, à l'aide d'injection de bleu trypan, l'existence de propriétés phagocytaires dans les odontoblastes des Sélaciens, je n'ai jamais rien pu constater d'analogue dans les ostéoblastes des Téléostéens, malgré des essais renouvelés d'injections de colorants vitaux ou d'encre de Chine diluée. Cet échec est peut-être à rapprocher des observations de BACK (1932) qui a constaté l'absence d'accumulation de ces substances dans les cellules d'origine mésenchymateuse des Salmonidés. Ce phénomène de destruction confirme évidemment l'opinion de LERICHE et POLICARD (1918, 1926) disant que les ostéoblastes sont des agents de réaction contre l'os, mais il ne faut pas oublier que ce n'est qu'un des aspects de l'activité des ostéoblastes et que LERICHE et POLICARD n'accordent pas assez d'importance aux autres aspects.

D'après les observations qui précèdent, il semble donc que l'on puisse, en définitive, décrire facilement pour les ostéoblastes au moins quatre aspects différents correspondant chacun à un état fonctionnel déterminé. D'après l'évolution des ostéoblastes, on peut ainsi distinguer :

- une phase préparatoire à l'ostéogénèse (fig. 49).
- une phase d'ostéogénèse constructive (fig. 2, 11 et 51).
- une phase d'inactivité (fig. 1 et pl. I, fig. 23).
- une phase de destruction (fig. 69),

tous les aspects de transition étant évidemment possibles.

c) EXISTENCE DE GRANULATIONS CALCAIRES DANS LES OSTÉOBLASTES.

La distinction précédente est surtout, comme on le voit, basée sur la forme, l'aspect général et la répartition des cellules étudiées. J'ai alors cherché s'il n'y avait pas d'autres caractères susceptibles d'entrer en jeu et j'ai d'abord pensé évidemment à la possibilité d'un critère cytologique. Mais la recherche des mitochondries, de même d'ailleurs que celle de l'appareil de Golgi, n'a été d'aucune utilité. Les techniques spéciales nécessaires à ces recherches sont en effet très difficiles à appliquer aux coupes de tissu osseux et ne m'ont jamais donné de résultats très nets, ni très suivis. Je ne pense d'ailleurs pas que la description de ces caractères, même avec précision, puisse apporter d'autres arguments que ceux déjà fournis par DUBREUIL et ses collaborateurs. Ces auteurs ont en effet réussi, malgré la difficulté, à mettre en évidence, dans les ostéoblastes de Vertébrés supérieurs, des signes cytologiques de sécrétion comparables à ceux que présentent les cellules glandulaires en général.

Je me suis alors adressé à l'histochimie. A ce point de vue, l'étude du calcium au niveau des ostéoblastes m'a permis de mettre en évidence un fait nouveau : *la présence de granulations calcaires dans les ostéoblastes.*

Je ne reviendrai pas sur les difficultés techniques de la mise en évidence du calcium, puisque je les ai déjà décrites plus haut en détail

(voir chapitre V — histochimie de la régénération). Je rappelle simple-

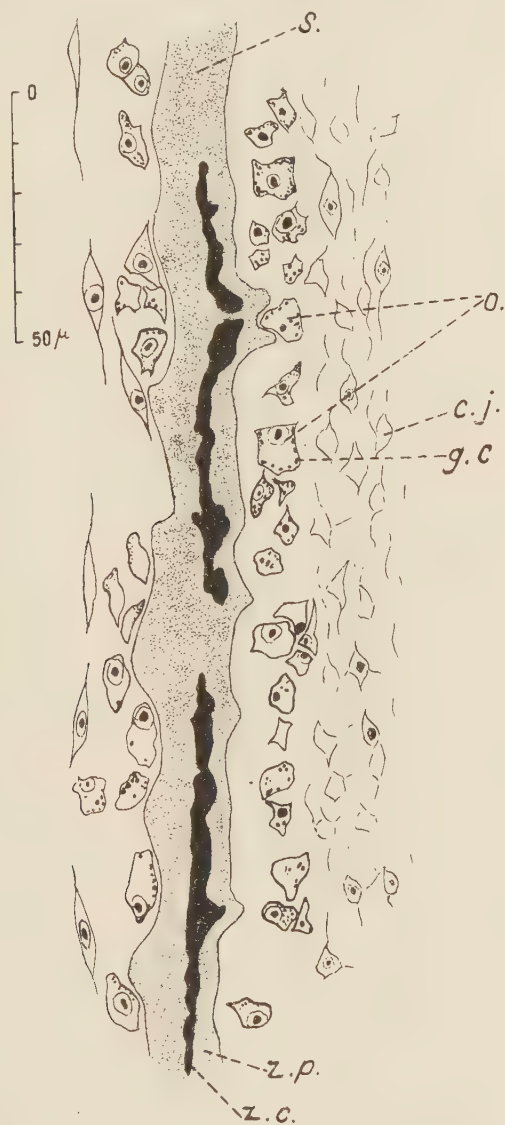


FIG. 70. — Nageoire pectorale de *Labrus berggylta* Asc. (fixation à l'alcool à 95° ; réaction de Kossa). Début de régénération ; ostéogénèse très intense.

c.j. = cellules conjonctives ; g.c. = granulations calcaires ; o. = ostéoblastes ; s. = substance ostéoïde ; z.c. = zone calcifiée ; z.p. = zone préosseuse.

ment pour mémoire qu'il faut utiliser avant tout un fixateur qui conserve intégralement tout le calcium (alcool à 95°) même s'il ne fixe pas

parfaitement les tissus à couper ; cette condition est primordiale dans le cas des granulations dont il s'agit ici et qui sont particulièrement labiles. Comme réaction j'ai dû me contenter à nouveau de la réaction

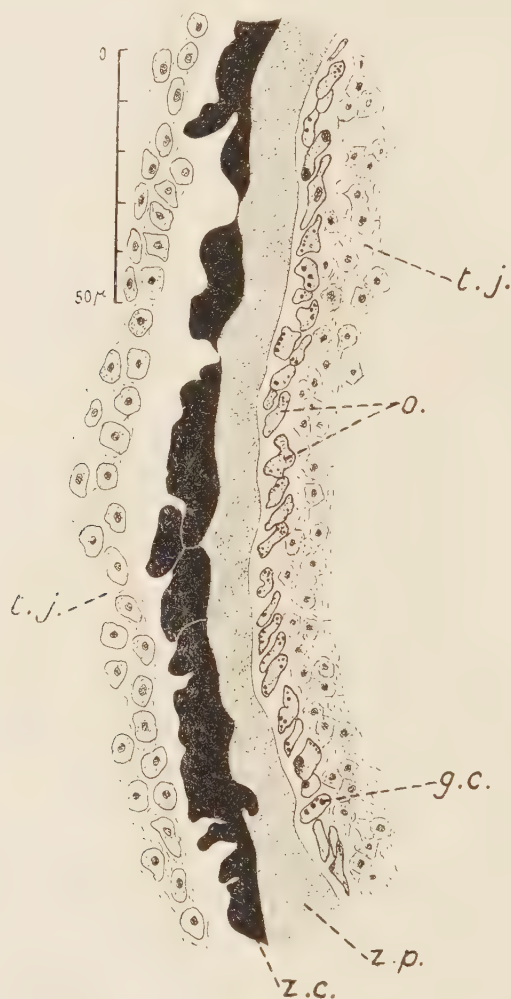


FIG. 71. — Nageoire pectorale de *Labrus berggylta* Asc. (fixation à l'alcool à 95° ; acétate de cobalt-sulfure d'ammonium). Ostéogénèse normale.

g.c. = granulations calcaires ; o. = ostéoblastes ; t.j. = tissu conjonctif ; z.c. = zone calcifiée ; z.p. = zone préosseuse.

argentique de von Kossa d'une part et de la réaction aux sels de cobalt-sulfure d'ammonium d'autre part, les autres réactions actuellement connues n'étant pas assez sensibles, ou ne permettant pas une localisation assez précise du calcium. Les deux méthodes m'ont donné des

résultats tout à fait comparables. J'ai fait suivre généralement la réaction histochimique par une légère coloration secondaire destinée à faciliter la lecture de la préparation ; pour cela j'ai utilisé la safranine-alcool picriquée de préférence à l'hémalun-éosine ou à l'hémalun-picro-indigo-carmin, car l'hémalun masque un peu les granulations noires.

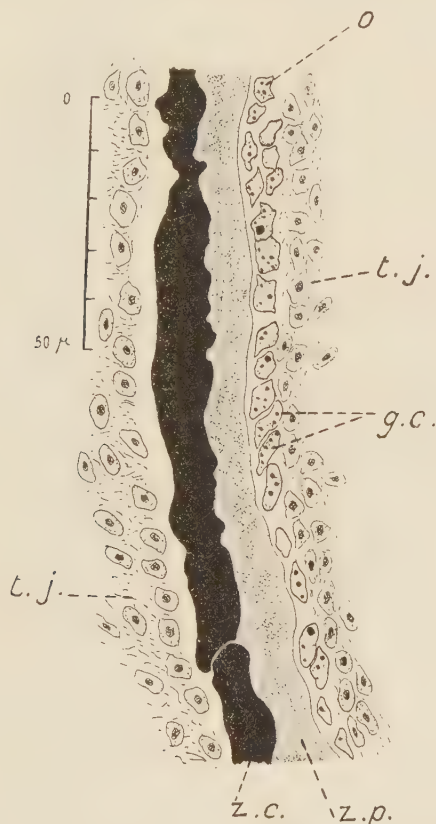


FIG. 72. — Nageoire pectorale de *Labrus berggylta* Asc.
(fixation à l'alcool à 95° ; réaction de Kossa). Ostéogénèse normale.

g.c. = granulations calcaires ; o. = ostéoblastes ; t.j. = tissu conjonctif ; z.c. = zone calcifiée ; z.p. = zone préosseuse.

La révélation de ces granulations est bien due à la réaction histochimique car il n'en apparaît pas si l'on effectue simplement une safranine-alcool picriquée sans réaction préalable. D'autre part, ces granulations intracellulaires sont localisées uniquement aux ostéoblastes ; il n'y en a pas dans les autres cellules. Enfin, elles sont bien de nature calcaire, car elles n'apparaissent pas lorsqu'il y a eu une décalcification quelconque, même légère.

Ces granulations calcaires apparaissent sous forme de petits cor-

puscules dans certains ostéoblastes avant même que l'os se calcifie ; elles sont alors très fines et peu nombreuses. Presqu'aussitôt l'os commence à se calcifier, à partir de sa région médiane. On s'aperçoit alors que le nombre des granulations a augmenté et que presque tous les



FIG. 73. — Nageoire pectorale de *Labrus berggylta* Asc. (fixation à l'alcool à 95° ; réaction de Kossa). Phase de destruction et de remaniements.

c.j. = cellules conjonctives ; f.j. = fibres conjonctives ; g.c. = granulations calcaires ; o. = ostéoblastes ; s. = substance ostéoïde.

ostéoblastes en contiennent ; c'est la phase d'ostéogénèse intense (voir fig. 70 et 74). Lorsque l'ostéogénèse se ralentit et que les ostéoblastes, ainsi que je l'ai expliqué ci-dessus, deviennent moins volumineux et plus allongés, le nombre des granulations diminue à nouveau, mais ce sont alors en général des granulations un peu plus grosses qu'au stade précédent (voir fig. 71 et 72). Puis lorsque l'ostéogénèse est arrêtée pour une raison quelconque (voir chapitre précédent), les ostéoblastes peu volumineux et de forme très allongée (phase d'inactivité) ne semblent plus renfermer aucune granulation. Il en est d'ailleurs de même pour les ostéocytes du tissu osseux vrai.

Signalons enfin que, lors de la phase de destruction et de remaniements, les ostéoblastes qui se sont introduits dans les espaces découpés à l'intérieur de la substance osseuse possèdent également des granulations (voir fig. 73 et 75).

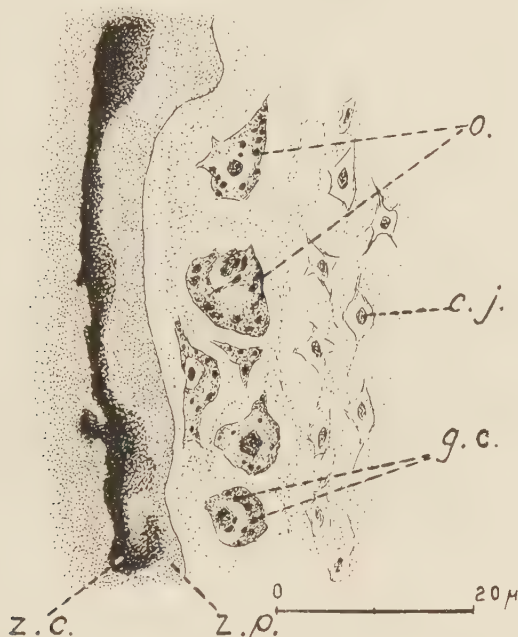


FIG. 74. — Nageoire pectorale de *Labrus berggylta* Asc. (fixation à l'alcool à 95° : réaction de Kossa). Quelques ostéoblastes de la figure 70 examinés à l'objectif à immersion.

c.j. = cellules conjonctives ; g.c. = granulations calcaires ; o. = ostéoblastes ; z.c. = zone calcifiée ; z.p. = zone préosseuse.

d) DISCUSSION.

Le fait qu'il existe des granulations calcaires dans les ostéoblastes des Téléostéens est nouveau. Jusqu'ici en effet, personne n'avait jamais rien décrit de tel. Ceci tient probablement à une question de matériel. J'ai sans doute eu la chance de tomber sur du matériel particulièrement favorable pour cette étude. J'ai en effet cherché à étendre ce résultat à d'autres groupes de Vertébrés, en utilisant les mêmes techniques (notamment sur des os de Batraciens et de Rongeurs, à des âges divers), mais ces recherches ont été infructueuses et il ne m'a jamais été permis d'observer de telles granulations autre part que chez les Poissons. Remarquons que toutes les recherches antérieures faites jusqu'ici dans cette voie, ont toujours été tentées sur des Vertébrés supérieurs, et c'est sans doute ce qui explique pourquoi l'existence

de ces granulations est restée ignorée des histologistes. D'autre part, la fragilité de ces granulations et les difficultés techniques rencontrées pour les conserver et les mettre en évidence, peuvent également contribuer à expliquer cette lacune dans nos connaissances.

Il nous reste à voir maintenant si cette observation nouvelle peut contribuer à nous éclairer sur le fonctionnement des ostéoblastes.

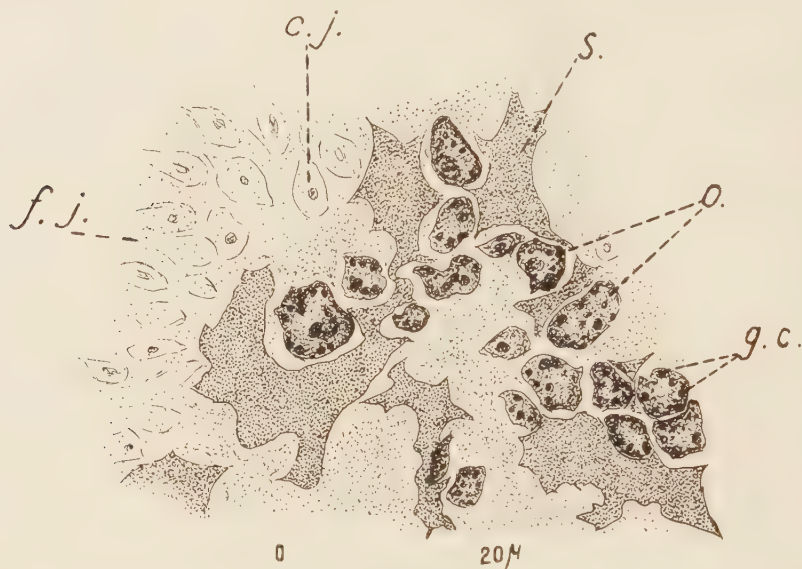


FIG. 75. — Nageoire pectorale de *Labrus berggylia* Asc. (fixation à l'alcool à 95° ; réaction de Kossa). Quelques ostéoblastes de la figure 73 examinés à l'objectif à immersion.

c.j. = cellules conjonctives ; f.j. = fibres conjonctives ; g.c. = granulations calcaires ; o. = ostéoblastes ; s. = substance ostéοide.

Ces ostéoblastes ont fort probablement un rôle dans l'ostéogénèse, mais il est évidemment très difficile de préciser lequel. Leur répartition à proximité des zones d'ossification n'est pas quelconque. Comme le déclare DUBREUIL, il n'y a pas de croissance osseuse sans ostéoblastes ; ceux-ci sont particulièrement nombreux dans les périodes d'ostéogénèse (normale ou expérimentale) active et se raréfient lorsque l'ostéogénèse se ralentit ; lorsqu'il ne se forme plus d'os, la plupart des ostéoblastes disparaissent par histolyse et ceux qui restent s'aplatissent. Comme d'autre part, ils apparaissent nettement avant les ébauches osseuses, il semble difficile d'admettre que l'existence des ostéoblastes soit simplement un phénomène réactionnel des cellules conjonctives au contact de la substance osseuse en constitution. De plus, l'aspect des ostéoblastes, comme nous l'avons vu ci-dessus, change au cours de l'ostéogénèse. Enfin, l'existence de granulations calcaires à l'intérieur de ces cellules, existence qui jusqu'ici n'avait pas été observée, le fait que ces granulations ne se présentent pas tou-

jours de la même façon suivant les stades, et leur absence dans les ostéoblastes au repos ainsi que dans les ostéocytes incorporés ne peuvent qu'appuyer cette idée.

Ceci est d'ailleurs à rapprocher des observations faites par DUBREUIL et ses collaborateurs sur les ostéoblastes de Vertébrés supérieurs. Ces auteurs ont réussi en effet, comme je le signalais plus haut, à mettre en évidence sur leur matériel, des signes cytologiques d'activité sécrétoire comparables à ceux des cellules glandulaires en général. Ils ont montré notamment que les ostéoblastes jeunes ont un chondriome et un vacuome abondant tandis que les ostéoblastes adultes et les cellules osseuses ont un chondriome et un vacuome presque inexistants ; de plus les ostéoblastes quiescents sont susceptibles de récupérer leurs signes d'activité en cas d'irritation. Il n'est donc pas tellement surprenant de trouver des granulations calcaires dans ces cellules.

Un point reste cependant particulièrement obscur. C'est que, lorsque la substance préosseuse se calcifie, le calcium se dépose, non pas sur le bord des travées au contact des ostéoblastes, mais à partir du centre de ces travées, ainsi que je l'ai déjà signalé. Il faudrait donc admettre que le calcium traverse d'abord la substance préosseuse pour arriver jusqu'au lieu de sa précipitation. Or mes essais de mise en évidence du calcium soluble dans la zone préosseuse (par la méthode de RABL à l'oxalate d'ammonium, par celle de CRÉTIN au réactif gallo-formique, ou par microincinération) sont toujours restés négatifs. Cet échec est peut-être simplement dû à une difficulté technique, mais comment en être certain ?

On pourrait aussi penser que les granulations ne sont pas élaborées par les ostéoblastes mais que leur présence à l'intérieur même de ceux-ci constitue simplement le résultat de phénomènes d'absorption ou de phagocytose. Ce point de vue peut évidemment s'admettre pour les stades correspondant à une régression ou à des remaniements osseux, mais semble peu probable lorsqu'il s'agit de stades correspondant à une activité constructive, surtout tout au début de celle-ci. D'ailleurs le fait que je n'ai jamais pu retrouver (pas plus que BACK) dans les cellules considérées, les substances injectées (colorants vitaux et encre de Chine diluée), montre que les propriétés phagocytaires de ces cellules ne doivent pas être tellement intenses.

4. — Conclusion.

En somme, mes observations apportent au moins un fait nouveau qui s'il ne permet pas encore de résoudre avec certitude le problème de la fonction des ostéoblastes, fournit cependant un argument de plus en faveur de la théorie cellulaire de l'ostéogénèse, ou plus exactement détruit un des principaux arguments de la théorie opposée, en montrant l'existence de granulations calcaires dans les ostéoblastes.

CHAPITRE IX.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

L'ensemble des principaux points examinés au cours de ce travail peut être résumé de la façon suivante :

1°) L'étude de la formation de quelques os chez les Poissons Téléostéens permet de montrer une graduation très nette des rapports entre os et cartilage, depuis l'ossification de membrane (os de la voûte du crâne, rayons des nageoires, etc...) jusqu'à l'ossification enchondrale (vertèbres), en passant par l'ossification parachondrale (os de la mâchoire inférieure), l'ossification périchondrale (certains arcs branchiaux) et l'ossification semi-enchondrale (autres arcs branchiaux). Cette étude m'a donné l'occasion de faire quelques observations sur la répartition du cartilage à stroma capsulaire, sur la possibilité d'une métaplasie chondro-osseuse (tissu mixte) et sur l'évolution générale des arcs branchiaux chez les Poissons Téléostéens.

2°) L'étude détaillée de la répartition du tissu ostéoïde permet d'interpréter celui-ci comme un tissu jeune, susceptible de se transformer en tissu osseux vrai. J'ai d'ailleurs décrit ce passage dans les arcs branchiaux et les rayons de nageoires de certaines familles (Clupéidés, Salmonidés, Characinidés, Cyprinidés, Siluridés, Cobitidés, Anguillidés, etc...). Dans les familles où le tissu ostéoïde persiste toute la vie (Esocidés, Poecilidés, Gastérostéidés, Centrarchidés, Labridés, Côtidés, Blenniidés, etc...) il s'agit en quelque sorte d'un caractère néoténique.

Une étude rapide de la croissance en longueur (croissance terminale et croissance basilaire) et de la croissance en épaisseur des lépidotriches articulés montre un accord complet avec les résultats histologiques précédents.

3°) Passant alors à l'étude de l'ostéogénèse expérimentale, j'ai pu, après avoir recherché quelles étaient les conditions les meilleures pour la régénération des rayons de nageoires, me livrer à deux sortes d'amputations : des amputations terminales et des amputations médianes, et en tirer des résultats d'ordre morphologique, histologique et histo-chimique. Il ressort de là que la réparation des rayons osseux comprend à la fois des phénomènes de réorganisation des parties anciennes et des phénomènes de néoformation dans lesquels la membrane basale sous-épidermique a une grande importance. C'est en effet à son niveau

qu'apparaît l'os nouveau et celui-ci reste même en relation avec elle pendant quelques temps par une membrane collagène. La membrane basale joue également un rôle dans l'orientation des actinotriches, mais ceux-ci n'ont aucune action ni sur la formation des os, ni sur celle des articulations. Rappelons d'autre part que l'examen histologique des rayons de nageoires en régénération confirme la théorie de l'homologie des articles et des écailles. Enfin, cette étude m'a permis de faire une revue des techniques utilisées pour la recherche histochimique du calcium et de vérifier la façon dont celui-ci apparaît dans la substance pré-osseuse.

4°) Des fragments de rayons isolés de leur base peuvent persister, croître et même régénérer leur partie terminale au besoin, grâce à la formation d'anastomoses sanguines transversales. Le système nerveux n'est absolument pas nécessaire pour cela (l'énervation étant contrôlée par l'observation de la pigmentation).

Il en est de même dans les expériences de transplantation d'ébauches de la nageoire caudale à l'intérieur de la paroi du sac vitellin d'embryons de *Salmo irideus*. Les greffons acquièrent des rayons osseux en l'absence de toute innervation. Seuls des phénomènes humoraux peuvent être mis en cause.

5°) La régénération des rayons osseux ne se fait pas pendant la saison d'hiver. Il existe un seuil de température pour la réparation des nageoires. Avec Mme J. BUSER, nous avons d'ailleurs pu déclencher expérimentalement l'ostéogénèse en hiver par chauffage et l'empêcher de se produire en été par action du froid. Nous avons pu aussi déclencher la régénération en hiver par action de la lumière, mais il nous a été impossible de l'arrêter en été par simple action de l'obscurité. Les facteurs externes semblent agir par l'intermédiaire des glandes endocrines (voir travaux de Mme J. BUSER sur ce point).

6°) Les ostéoblastes dérivent de cellules conjonctives et apparaissent avant les premières travées osseuses. Leur aspect varie au cours de l'ostéogénèse. Dans certains cas les ostéoblastes semblent avoir un rôle destructeur. Enfin, ce sont eux qui donnent naissance aux ostéocytes lorsqu'il y en a. Mais le fait nouveau principal est que les ostéoblastes, à certains stades, renferment des granulations de nature calcaire, ce qui remet à l'ordre du jour la rivalité entre la théorie cellulaire et la théorie humorale de l'ostéogénèse en apportant un argument favorable à la première de ces théories.

BIBLIOGRAPHIE.

- ABELOOS (M.). — Sur la perte du poids des Planaires en régénération à différentes températures. *C. R. Soc. Biol.*, 1927, 96, 925-926.
- ABELOOS (M.). — Sur la régénération aux dépens de tissus régénérés. *C. R. Soc. Biol.*, 1928, 98, 1129-1130.
- ABELOOS (M.). — Recherches expérimentales sur la croissance et la régénération chez les Planaires. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, 1930, 64, 1-140.
- ABELOOS (M.). — La régénération et les problèmes de la morphogénèse. Coll. Actual. Biol., Gauthier-Villars, Paris, 1932, 247 p.
- ARVY (L.). — L'action biologique des œstrogènes. *L'Année Biologique*, 1947, 23, 5/6, 93-136.
- ARVY (L.) et GABE (M.). — Mise en évidence simultanée du fer figuré et de la phosphatase alcaline sur coupes à la paraffine. *Bull. Hist. Appl.*, 1949, 26, 189-191.
- BACK (M.). — Origine et développement du mésenchyme chez les Salmonidés. Thèse Doct. Sci. Univ. Paris, 1932, 54 p.
- BANZ (E.). — Zur Morphologie und Histologie der Flossenregeneration bei Knochenfischen unter besonderer Berücksichtigung von *Misgurnus fossilis*. *Zool. Anz.*, 1935, 112, 209-230.
- BAUDELLOT (E.). — Observations sur la structure et le développement des nageoires des Poissons osseux. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, 1873, 2, 18-24.
- BAUDELLOT (E.). — Observations sur la structure et le développement des écailles des Poissons osseux. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, 1873, 2, 87-244.
- BEER (G. R. de). — The development of the vertebrate skull. Oxford University Press., London, 1937, 552 p.
- BEIGEL (C.). — Zur Regeneration des Kiemendeckels und der Flossen der Teleostier. *Bull. Intern. Acad. Sci. Cracovie*, 1910, 655-690.
- BENOIT (J.) et CLAVERT (J.). — Action de la thyroïde sur le métabolisme calcique et le tissu osseux chez le Canard domestique. *Arch. Anat. Micros. Morph. Exp.*, 1948, 37, 3, 214-229.
- BENOIT (J.), GRANGAUD (R.) et SARFATI. — Modifications squelettiques et sériques consécutives à l'activation ovarienne déclenchée par l'éclairement artificiel chez la Cane domestique. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, 135, 1482-1485.
- BERG (L. S.). — Classification of fishes both recent and fossil. Edwards, Ann Arbor, Michigan, 1947, 517 p.
- BERTIN (L.). — Recherches bionomiques, biométriques et systématiques sur les Epinoches (Gastérostéidés). Thèse Doct. Sci., Paris, 1925.
- BERTIN (L.). — Méthodes de coloration à l'alizarine et éclaircissement de petits animaux pour l'étude macroscopique. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1941, 66, 132-133.
- BLANC (M.). — Etude comparative de l'ossification des arcs branchiaux chez les Poissons Téléostéens. Diplôme d'Etudes supérieures, Paris, 20 nov. 1944.
- BLANC (M.). — L'ossification des arcs branchiaux chez les Poissons Téléostéens. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1944, 69 (6), 226-230.
- BLANC (M.). — Structure histologique des rayons de nageoires chez les Poissons Téléostéens. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1947, 72 (1), 17-22.
- BLANC (M.). — Sur la réparation des nageoires de Poissons Téléostéens après amputation d'un volet médian. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, 1948, 85, N. et Rev. n° 4, 184-188.

- BLANC (M.). — Sur la destinée des fragments de rayons osseux isolés de leur base dans les nageoires de Poissons Téléostéens. *C. R. Acad. Sci.*, 1948, 226, 18, 1466-1468.
- BLANC (M.). — Etude histologique de la régénération des nageoires chez quelques Poissons Téléostéens. *Arch. Anat. Micros. Morph. Exp.*, 1949, 38, 1, 52-64.
- BLANC (M.). — Convergence morphologique des épines des nageoires de Labridés et de Poissons-Chats. *Feuille Natur.*, 1950, 5 (1-2), 11-12.
- BLANC (M.). — Transplantations d'ébauches de la nageoire caudale chez *Salmo irideus* Gibb. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1951, 232, 2140-2141.
- BLANC (M.). — Quelques considérations sur les actinotriches des nageoires de Poissons Téléostéens. *Bull. Mus. Nat. Hist. Nat.*, 2° s., 1951, 23 (4), 360-362.
- BLANC (M.) et BUSER (J.). — Action de la température sur l'ostéogénèse réparatrice chez les Poissons Téléostéens. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1949, 74 (3), 167-170.
- BLANC (M.) et BUSER (J.). — Etude des variations du degré d'ossification des différentes parties de la nageoire pectorale du Poisson-Chat. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, 1949, 86, N. et Rev. n° 1, 8-12.
- BLANC (M.) et BUSER (J.). — Action de la lumière sur l'ostéogénèse réparatrice chez le Poisson-Chat. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1949, 74 (3), 170-172.
- BODANSKY (S.), BAKWIN (H.) et BAKWIN (R. M.). — The distribution of phosphatases in the tissues of Teleosts and Elasmobranchs. *Journ. Biol. Chem.*, 1931, 94, 551-560.
- BOGACKI (K.). — Experimentelle Flossenregeneration bei Europäischen Süswasserfischen. *Arch. Entw. Mech.*, 1906, 22, 18-20.
- BOUGIS (P.). — Sur un allongement des nageoires pectorales corrélatif d'un changement de milieu chez les jeunes *Mullus*. *Vie et Milieu*, 1950, 1 (2), 243-247.
- BOURNE (G.). — The distribution of alkaline phosphatase in various tissues. *Quart. Journ. Exp. Physiol.*, 1943, 32, 1-20.
- BUDKER (P.). — Les cryptes sensorielles et les tenticules cutanées des Plagiostomes. *Ann. Inst. Océan. Monaco*, 1938, 18, 207-288.
- BUJARD (E.). — Cartilage et os. *Bull. Hist. Appl.*, 1931, 8 (9), 265-271.
- BUSER (J.). — Modifications chimiques locales au cours de la régénération osseuse des nageoires du Poisson-Chat. *C. R. Soc. Biol.*, 1948, 142, 799-800.
- BUSER (J.). — La prégnéninolone utilisée comme facteur antithyroïdien et son rôle inhibiteur sur la régénération chez *Lebistes reticulatus* et *Ameiurus nebulosus*. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1950, 75 (2-3), 75-80.
- BUSER (J.). — Etude des phénomènes de régénération chez quelques Poissons Téléostéens marins. *Vie et Milieu*, 1950, 1 (2), 248-251.
- BUSER (J.). — Hypophysectomie et régénération chez les Poissons Téléostéens. *Vie et Milieu*, 1950, 1 (2), 252-254.
- BUSER (J.) et BOUGIS (P.). — Allongement des nageoires pectorales provoqué par la thyroxine chez *Gambusia affinis*. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, 1951, 88, N. et Rev. n° 3, 116-122.
- BUSER (J.). — Etude expérimentale du déterminisme de la régénération des nageoires chez les Poissons Téléostéens. Thèse Doct. Sci., Paris, 1952 (en cours de publication).
- CAPPELIN (M.). — Une technique pour le dosage cytochimique des phosphatases. *Bull. Hist. Appl.*, 1947, 24, 155-162.
- COLLET (J.). — La phosphatase du système osseux chez les Poissons. Thèse Pharm. Marseille, 1940, 96 p.
- CRETIN (A.). — Les réactions histologiques du calcium. *C. R. Ass. Anat. Gand*, 1922.
- CRETIN (A.). — La chaux et le phosphore dans les tissus : de quelques méthodes nouvelles de recherche. *C. R. Ass. Anat.*, Lyon, 1923.

- CRETIN (A.). — De quelques méthodes de recherche du phosphore et de la chaux dans les tissus. Thèse Méd. Paris, 1923.
- CRETIN (A.). — La chaux soluble. *C. R. Ass. Anat.* Strasbourg, 1924.
- CRETIN (A.). — Sur un nouveau réactif du calcium, applicable aux recherches histologiques. *Bull. Hist. Appl.*, 1924, 1, 125-132.
- CRETIN (A.). — Les phases de l'imprégnation calcaire dans le tissu osseux. *Bull. Hist. Appl.*, 1924, 1, 334-339.
- CRETIN (A.). — Etudes sur la calcification normale. Le métabolisme du calcium. Les phénomènes minéraux de la réparation des os fracturés. *Gaz. des Hôp.*, 1924, 57, 946-950.
- CRETIN (A.). — Recherches sur l'ossification et sur la réparation des os fracturés. Imprimerie de l'Institut Commercial, Le Mans, 1925.
- CRETIN (A.). — Contribution à l'étude de l'ossification et de la réparation des os fracturés. Les conditions physicochimiques et le rôle du tissu élastique dans la réparation osseuse. Thèse Doct. Univ. Paris, 1947, 130 p.
- CRETIN (A.) et MAHOT (H.). — Contribution à l'étude de la fixation histologique. *Bull. Hist. Appl.*, 1946, 23, 108-109.
- DALLEMAGNE (M.). — La composition et la constitution de la substance minérale osseuse : 1) L'indépendance du phosphate tricalcique et du carbonate calcique dans les sels osseux non calcinés. *Acta Biol. Belg.*, 1942, 2, 298-300.
- DALLEMAGNE (M.). — La composition et la constitution de la substance minérale osseuse : 2) La substance minérale renferme-t-elle des apatites ? *Acta Biol. Belg.*, 1942, 2, 301-303.
- DALLEMAGNE (M.). — La nature chimique de la substance minérale osseuse. Thèse Agrég. Enseig. Sup., Liège, 1943.
- DALLEMAGNE (M.). — Données récentes sur la nature et le métabolisme de l'os. *Actual. Biochim.*, n° 2, Masson, Paris, 1945, 67 p.
- DALLEMAGNE (M.) et BRASSEUR (H.). — La composition et la constitution de la substance minérale osseuse : 3) L'étude de la substance minérale osseuse par diffraction des rayons X. *Acta Biol. Belg.*, 1942, 2, 440-444.
- DALLEMAGNE (M.) et RYCKER (H. de). — La composition et la constitution de la substance minérale osseuse : 4) L'analyse thermique de la substance minérale osseuse. *Acta Biol. Belg.*, 1942, 2, 445-447.
- DANIELLI (J. F.). — Etude critique des techniques utilisées pour la détermination de la localisation cytotologique des phosphatases alcalines. *Journ. Exp. Biol.*, 1946, 22, 110-117.
- DEVILLERS (Ch.). — Recherches sur le crâne dermique des Téléostéens. *Ann. Paléont.*, 1947, 33, 1-94.
- DEVILLERS (Ch.). — Quelques aspects de l'évolution du crâne chez les Poissons. *L'Année Biologique*, 1950, 26, 145-180.
- DUBREUIL (G.), CHARBONNEL (H.) et MASSE (L.). — Les processus normaux et pathologiques de l'ostéogénèse. *Ann. Anat. Pathol.*, 1933, 10 (3), 225-270 et 10 (4), 337-362.
- EPHRUSSI (B.). — La culture des tissus. Gauthier-Villars, Paris, 1932, 233 p.
- FELL (H. B.) et ROBISON (R.). — The growth, development and phosphatase activity of embryonic avian femora and limb-buds cultivated in vitro. *Biochem. Journ.*, 1929, 23, 767.
- FELL (H. B.) et ROBISON (R.). — The development and phosphatase activity in vivo and in vitro of the mandibular skeletal tissue of the embryonic fowl. *Biochem. Journ.*, 1930, 24, 1905.
- FISCHER (A.). — A pure strain of cartilage cells in vitro. *Journ. Exp. Med.*, 1922, 36, 379.
- FISCHER (A.) et PARKER (R. C.). — Proliferation und Differenzierung. *Arch. für. Exp. Zellf.*, 1929, 8, 297.
- FLORENTIN (P.). — Le problème de l'ostéogénèse normale et pathologique. *Biologie Médicale*, 1935, 25 (6), 321-349.

- FLORENTIN (P.). — L'ostéogénèse expérimentale et pathologique. *Biologie Médicale*, 1936, 26 (2), 53-73.
- FLORKIN (M.). — Le squelette. Chap. VI du Précis de Biochimie Humaine, 1945 (4^e édition), 160-185.
- FOLLEY (S. J.) et KAY (H. D.). — The phosphatases. *Ergebn. d. Enzymforsch.*, Leipzig, 1936, 5, 159-212.
- FONTAINE (M.) et PORTIER (P.). — Sur la teneur en calcium du sang des Poissons marins. *C. R. Acad. Sci.*, 1931, 193 (23), 1218-1220.
- FONTAINE (M.). — Sur la relation existant chez les Poissons marins et potamotoques entre la teneur en phosphore inorganique du sérum et l'ossification du squelette. *C. R. Acad. Sci.*, 1932, 194 (4), 395-396.
- FONTAINE (M.). — Rapport entre l'ossification du squelette et l'état du calcium sanguin chez les Poissons. *C. R. Acad. Sci.*, 1934, 199 (24), 1452-1454.
- FONTAINE (M.). — Le calcium sanguin chez les Cyclostomes et les Poissons, ses rapports avec l'état d'ossification du squelette. *Arch. Intern. Physiol.*, 1935, 40 (3), 374-384.
- GARRAULT (H.). — Formation des baguettes d'élastoïdine chez les embryons de Salmonides. *C. R. Acad. Sci.*, 1935, 200 (14), 1248-1250.
- GARRAULT (H.). — Formation de la charpente primaire des nageoires chez l'embryon de Truite. *C. R. Ass. Anat.*, 1935, 30, 214-216.
- GARRAULT (H.). — Développement des fibres d'élastoïdine chez les Salmonides. *Arch. Anat. Micros. Morph. Exp.*, 1936, 32 (1), 105-137.
- GARRAULT (H.). — L'élastoïdine des Poissons Téléostéens. *Ann. Physiol. et Physicochim. Biol.*, 1936, 12 (2), 291-300.
- GENDRE (H.). — Le glycogène dans les cartilages en voie d'ossification. *Bull. Hist. Appl.*, 1938, 15, 165-178.
- GOMORI (G.). — Microtechnical demonstration of phosphatase in tissue sections. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1939, 42, 23-26.
- GOMORI (G.). — The distribution of phosphatase in normal organs and tissues. *Journ. Cell. Comp. Physiol.*, 1941, 17, 71-83.
- GOMORI (G.). — Etude des enzymes dans les coupes de tissus. *Amer. Journ. Clin. Pathol.*, 1946, 16, 347-352.
- GOODRICH (E. S.). — On the dermal fin-rays of Fishes, living and extinct. *Quart. Journ. Micros. Sci.*, 1903, 47, 465-522.
- GOODRICH (E. S.). — Note on the development, structure and origin of the median and paired fins of Fishes. *Quart. Journ. Micros. Sci.*, 1906, 50, 333-376.
- GOODRICH (E. S.). — Studies on the structure and development of vertebrates. Macmillan, London, 1930, 837 p.
- GREEP (R. O.), FISHER (C. J.) et MORSE (A.). — Histochemical demonstration of alkaline phosphatase in decalcified dental and osseous tissues. *Science*, 1947, 105, 666.
- HAINES (R. W.). — Epiphysial growth in the branchial skeleton of Fishes. *Quart. Journ. Micros. Sci. London*, 1934, 77 (1), 77-97.
- HAINES (R. W.). — The posterior end of Meckel's cartilage and related ossifications in bony fishes. *Quart. Journ. Micros. Sci., London*, 1937, 80 (1), 1-38.
- HARRISON (R. G.). — Ueber die Entwicklung der nicht knopelig vorgebildeten Skelettheile in den Flossen der Teleostier. *Arch. f. Mikr. Anat.*, 1893, 42, 248-278.
- HARRISON (R. G.). — Die Entwicklung der Unpaaren und Paarigen Flossen der Teleostier. *Arch. f. Mikr. Anat.*, 1895, 46, 500-574.
- HARRISON (R. G.). — Ectodermal or mesodermal origin of the bones of Teleosts. *Anat. Anz.*, 1895, 10, 138-144.
- HERMANN (H.), DREVON (B.) et CIER (J. F.). — Le système nerveux intervient-il dans la fixation osseuse du calcium. *C. R. Soc. Biol.*, 1949, 143, 275-277.

- HERTWIG (O.). — Ueber Bau und Entwicklung der Placoidschuppen und der Zähne der Selachier. *Jenaische Zeitsch.*, 1874, 8, 331-404.
- KABAT (E. A.) et FURTH (J.). — A histochemical study of the distribution of alkaline phosphatase in various normal and neoplastic tissues. *Am. Journ. Path.*, 1941, 17, 303-318.
- KLAATSCH (H.). — Zur Morphologie der Fischrippen und zur Geschichte der Hartsbstanzgewebe. *Morph. Jahrb.*, 1890, 16, 97-203 et 209-258.
- KLAATSCH (H.). — Ueber die Herkunft der Skleroblasten. Ein Beitrag zur Lehre von der Osteogenese. *Morphol. Jahrbuch*, 1894, 21, 153-240.
- KOLLIKER (R. A.). — Ueber die Verschieden Typen in der Mikroskopischen Structur der Skelets der Knochenfischen. *Sitz. der Physicisch. Medicin. Gesells. in Würzburg*, 1859, 9, 257-271.
- LACROIX (P.). — L'organisation des os. Masson, Paris, 1949, 230 p.
- LERICHE (R.). — Physiologie et pathologie du tissu osseux. Masson, Paris, 1939.
- LERICHE (R.) et POLICARD (A.). — A propos du rôle des ostéoblastes. Leur comportement dans la formation de l'os périostique au cours de la régénération osseuse chez l'homme. *C. R. Soc. Biol.*, 1918, 81, 206-209.
- LERICHE (R.) et POLICARD (A.). — Mécanisme histologique de la formation de l'os nouveau au cours de la régénération osseuse chez l'homme. *C. R. Acad. Sci.*, 1918, 166, 127-128.
- LERICHE (R.) et POLICARD (A.). — Les mutations chimiques locales et l'action de présence de l'os dans l'ostéogénèse réparatrice. *C. R. Soc. Biol.*, 1918, 81, 977-981.
- LERICHE (R.) et POLICARD (A.). — Physiologie normale et pathologique de l'os. Masson, Paris, 1926, 229 p.
- LILLIE (F. R.) et KNOWLTON (F. P.). — On the effect of temperature on the development of animals. *Zool. Bull.*, 1897, 1.
- LISON (L.). — Histochimie animale. Gauthier-Villars, Paris, 1936, 320 p.
- LISON (L.). — La recherche histochimique des phosphatases. Etude critique. *Bull. Hist. Appl.*, 1948, 25, 2, 23-41.
- LORCH (I. J.). — Mise en évidence de la phosphatase dans les os décalcifiés. *Nature*, 1946, 158, 269.
- LORCH (I. J.). — Localisation de la phosphatase alcaline dans les os de Mammifères. *Quart. Journ. Micros. Sci.*, 1947, 88, 367-381.
- LORCH (I. J.). — La répartition de la phosphatase alcaline dans le squelette de la Truite au cours du développement. *Quart. Journ. Micros. Sci.*, 1949, 90 (2), 183-207.
- MANGOLD (O.). — Transplantations und Regenerations experimente bei Forellen. *Naturwiss.*, 1931, 19, 23-25.
- MILLOT (J.). — Cicatrisation et régénération. A. Colin, Paris, 1931, 204 p.
- MORGAN (T. H.). — Regeneration in Teleosts. *Arch. Entw. Mech.*, 1900, 10, 120-134.
- MORGAN (T. H.). — Regeneration. New-York, 1901, 316 p.
- NABRIT (M.). — The role of the fin-rays in the regeneration in the tail-fins of fishes. *Biol. Bull.*, 1929, 56 (4), 235-266.
- NABRIT (M.). — The role of the basal plate of the tail in regeneration in the tail-fins of fishes. *Biol. Bull.*, 1931, 60 (1), 60-63.
- NARDI (F.). — Das Verhalten der Schuppen erwachsener Fische bei Regeneration und Transplantation versuchen. *Arch. f. Entwickl. Mech.*, 1935, 133, 621-663.
- OSBURN (R. C.). — The functions of the fins of fishes. *Science*, 1906, 23, 589.
- PARKER (R. C.). — Physiologische Eigenschaften mesenchymaler Zellen in vitro. *Arch. f. Exp. Zellf.*, 1929, 8, 340.
- PARKER (R. C.) et FISCHER (A.). — Classification of fibroblasts according to their physiological properties. *Proc. Soc. f. Exp. Biol. and Med.*, 1929, 26, 580.
- PEEBLES (F.). — Effect of temperature on the regeneration of *Hydra*. *Zool. Bull.*, 1898, 2.

- PIVETEAU (J.). — L'histoire du tissu osseux. *Terre et Vie*, 1934, 4, 515-522.
- POLICARD (A.). — Quelques mécanismes élémentaires de l'ossification enchondrale. *Bull. Hist. Appl.*, 1928, 5 (4), 153-177.
- POLICARD (A.). — La méthode de la microincinération. *Actual. Sci. Ind.*, Hermann, Paris, 1938, 48 p.
- POLICARD (A.). — Sur quelques mécanismes histologiques élémentaires intervenant dans la réparation osseuse. *Presse Med.*, 1940, 36, 409.
- POLICARD (A.). — L'appareil de croissance des os longs. Ses mécanismes à l'état normal et pathologique. Paris, Masson, 1941.
- POLICARD (A.) et ROCHE (J.). — La formation de la substance osseuse. Essai de coordination des données histologiques et biochimiques. *Ann. Physiol. et Physicochim. Biol.*, 1937, 13 (4), 649-703.
- PRENANT (M.). — Emploi du nitrate d'argent pour l'étude de la texture osseuse. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, 123, 472-473.
- PRENANT (M.). — Structure fine et croissance normale des lépidotriches articulés chez les Téléostéens. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, 123, 474-475.
- PRENANT (M.). — Sur la croissance des lépidotriches articulés chez les Téléostéens. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1937, 62 (3), 190-195.
- PRENANT (M.). — Régénération des rayons osseux articulés après amputation des nageoires chez des Téléostéens. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, 127, 980-982.
- RENAUT (J.). — Histologie et cytologie des cellules osseuses. Développement et caractères généraux des fibres osseuses. *C. R. Ass. Anat. Nancy*, 1902, 4, 216-229.
- RETTERER (E.). — Structure et histogénèse de l'os. *Journ. Anat. Physiol. Norm. Path.*, 1905, 41, 561-640.
- RETTERER (E.). — Technique et structure de l'os des Mammifères. *C. R. Soc. Biol.*, 1905, 204-207.
- RETTERER (E.). — Du tissu osseux des Poissons Téléostéens. *C. R. Soc. Biol.*, 1905, 2, 246-248.
- RETTERER (E.). — Du tissu osseux des Mammifères et des Poissons. *C. R. Ass. Anat.*, 1905, 120-126.
- RETTERER (E.). — Des capsules osseuses. *C. R. Soc. Biol.*, 1905, 366-368.
- ROBISON (R.). — Bone phosphatase. *Ergebn. d. Enzymforsch. Leipzig*, 1932, 1, 280-294.
- ROCHE (J.). — La phosphatase des os. Biochimie normale et pathologique. *Exp. Ann. Bioch. Med.*, 1942, 3^e s., 251-269.
- ROCHE (J.) et BULLINGER (E.). — Sur les phosphatases du système osseux des Poissons (Sélaciens et Téléostéens). *C. R. Acad. Sci.*, 1938, 207 (20), 947-948.
- ROCHE (J.) et BULLINGER (E.). — Recherches sur l'ossification. VII. La phosphatase du squelette (os, dents, dermosquelette) chez les Poissons osseux ou cartilagineux. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1939, 21 (1), 166-184.
- ROCHE (J.) et COLLET (J.). — Recherches sur l'ossification. VIII. Activité phosphatasique des divers organes osseux au cours du développement chez la Sardine et rôle de la phosphatase dans la formation du squelette. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1940, 22 (5-6), 245-262.
- ROCHE (J.) et COURTOIS (J.). — Les phosphatases. *Exp. Ann. Bioch. Med.*, 1944, 4^e s., 219-284.
- ROTH (F.). — Ueber den Bau und die Entwicklung des Hautpanzers von *Gasterosteus aculeatus*. *Anat. Anz.*, 1920, 52, 513-534.
- RYDER (J. A.). — The development of the rays of osseous fishes. *Amer. Natur.*, 1885, 19, 200-204.
- SCHINDLER (O.). — Zur Regeneration der Schwanzflosse bei Salmonidenbrut. *Arch. f. Entw. Mech.*, 1938, 133, 506-509.
- SCHLEIP (W.). — Entwicklung der Kopfnochen bei dem Lachs und der Forelle. *Anat. Hefte*, 1904, 23, 331-427.
- SCHMIDT-MONNARD (C.). — Die Histogenese der Knochens der Teleostier. *Zeitsch. f. Wiss. Zool.*, 1883, 39, 97-136.

- SCOTT (G. G.). — Further notes on the regeneration of the fins of *Fundulus heteroclitus*. *Biol. Bull.*, 1907, 12 (6), 385-400.
- SCOTT (G. G.). — Regeneration in *Fundulus* and its relation to the size of the fish. *Biol. Bull.*, 1909, 17 (5), 343-353.
- STEPHAN (P.). — Recherches histologiques sur la structure des corps vertébraux des Poissons Téléostéens. *Arch. Anat. Micros.*, 1898, 2, 355-372.
- STEPHAN (P.). — Recherches histologiques sur la structure du tissu osseux des Poissons. *Bull. Sci. Fr. Belg.*, 1900, 33, 281-429.
- THIBAULT (Ch.). — Hypothèse neurohumorale et réactions pigmentaires chez *Gobius auratus* et *Xiphophorus helleri*. *C. R. Soc. Biol.*, 1944, 138, 161-162.
- THIBAULT (Ch.). — Hypothèse neurohumorale et réactions pigmentaires chez la Carpe. *C. R. Soc. Biol.*, 1944, 138, 240-241.
- THIBAULT (Ch.). — Physiologie pigmentaire chez *Gobius auratus*. *Bull. Mus. Hist. Nat. Marseille*, 1944, 1, 17-40.
- THOMAS (L.). — Contribution à l'histopathologie comparée des Poissons. Thèse Doct. Sci. Paris, 1948, 922 p.
- TRETJAKOFF (D.). — Die Mikrostruktur der Flossenstrahlen bei den Pleuronectiden und den Plectognathen. *Anat. Anz.*, 1925, 60, 182-191.
- TRETJAKOFF (D.). — Das Knochengewebe bei den Pleuronectiden und den Plectognathen. *Anat. Anz.*, 1925, 54, 379-387.
- TRETJAKOFF (D.) et CHINKUS (F.). — Das Knochengewebe der Fische. *Zeitsch. Anat. Entwicklungsgesch.*, 1927, 83, 363-396.
- TUCHMANN-DUPLESSIS (H.). — Variations saisonnières et répercussions de l'hypophysectomie sur la thyroïde du Triton alpestre. *Bull. Hist. Appl.*, 1945, 22, 17-25.
- VILTER (V.). — Déterminisme mélanco-constrictor de bandes d'assombrissement consécutives aux sections nerveuses dans la nageoire dorsale du *Gobius*. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, 129, 1166-1168.
- VILTER (V.). — Configuration des dermatomes pigmento-moteurs chez les Téléostéens et modalités de leur recouvrement réciproque. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 130, 388-390.
- WALDEYER (H. W.). — Ueber den Ossifications process. *Arch. f. Mikr. Anat.*, 1865, 1, 354-375.
-

LISTE DES TABLEAUX INCORPORÉS AU TEXTE.

	Pages.
1) Récapitulation des espèces étudiées	8-9
2) Répartition des tissus osseux et ostéoïde chez les Téléostéens étudiés à l'état adulte	41
3) Nombre d'articles composant les rayons médians de la nageoire caudale à différents stades chez <i>Pygosteus pungitius</i> (L.)....	49
4) Croissance en longueur de l'article basilaire chez <i>Cottus bubalis</i> Euph. (9 ^e rayon — pectorale gauche)	52
5) Croissance en longueur de l'article basilaire chez <i>Gobius paga-</i> <i>nellus</i> L. (9 ^e rayon — pectorale droite)	53
6) Croissance en longueur de l'article basilaire chez <i>Blennius pho-</i> <i>lis</i> L. (9 ^e rayon — pectorale droite)	54
7) Vitesse comparée de la régénération chez deux <i>Cobitis barba-</i> <i>tula</i> L., de taille différente	62
8) Croissance terminale d'un rayon maintenu isolé de la base de la nageoire, chez <i>Pygosteus pungitius</i> (L.) et <i>Phoxinus phoxi-</i> <i>nus</i> (L.), pendant une année	73

LISTE DES FIGURES.

	Pages
FIG. 1. — Formation d'un os de membrane. Voûte du crâne d'un alevin d' <i>Idus orfus</i> (L.) de 35 jours. Région centrale	15
FIG. 2. — Formation d'un os de membrane. Voûte du crâne d'un alevin d' <i>Idus orfus</i> (L.) de 35 jours. Extrémité en cours de croissance	16
FIG. 3. — Mâchoire inférieure d'alevin de <i>Salmo salar</i> L. âgé de deux mois et demi. Coupe transversale montrant un exemple d'ossification parachondrale	17
FIG. 4. — Mâchoire inférieure d'alevin de <i>Salmo salar</i> L. âgé de deux mois et demi. Coupe transversale montrant un exemple d'ossification parachondrale	18
FIG. 5. — Mâchoire inférieure d'alevin de <i>Salmo irideus</i> Gibb. âgé de sept jours. Coupe transversale montrant un exemple d'ossification parachondrale	19
FIG. 6. — Arc branchial d'alevin d' <i>Esox lucius</i> L. de 14 mm. de long. Coupe transversale montrant le « cartilage à stroma capsulaire ». ..	21
FIG. 7 et 8. — Arc branchial de <i>Cottus gobio</i> L. adulte. Coupes transversales à deux niveaux différents	22
FIG. 9. — Arc branchial de <i>Gambusia affinis</i> (Bd. Gd.) adulte. Coupe transversale montrant l'axe cartilagineux central et le tissu ostéoïde périphérique formé par ossification périchondrale....	23
FIG. 10, 11, 12. — Arc branchial de <i>Carassius auratus</i> (L.). Coupes transversales à trois stades différents. Disparition progressive du cartilage central	24-25
FIG. 13. — Arc branchial d' <i>Anguilla anguilla</i> (L.) adulte. Coupe transversale	26
FIG. 14, 15, 16, 17. — Arc branchial d' <i>Eupomotis gibbosus</i> L. adulte. Schémas de coupes transversales à quatre stades différents...27-28-29	
FIG. 18. — Ossification enchondrale d'une vertèbre (d'après P. STEPHAN, 1900)	30
FIG. 19. — Arc branchial de <i>Salmo irideus</i> Gibb. adulte. Coupe transversale montrant le « tissu mixte »	31
FIG. 20. — Filament branchial de <i>Salmo irideus</i> Gibb. adulte. Coupe longitudinale	Pl. I
FIG. 21. — Filament branchial de <i>Gasterosteus aculeatus</i> L. adulte. Coupe longitudinale	Pl. I
FIG. 22. — Arc branchial de Civelles de 7,6 cm de long. Coupe transversale montrant le tissu ostéoïde	Pl. I
FIG. 23. — Nageoire pectorale de <i>Labrus berggylta</i> Asc. adulte. Coupe transversale montrant le tissu ostéoïde	Pl. II
FIG. 24. — Nageoire caudale de <i>Salmo irideus</i> Gibb. adulte. Coupe transversale montrant le tissu osseux dans la partie médiane d'un rayon	Pl. II

- FIG. 25. — Nageoire pectorale de *Cyprinus carpio* L. adulte. Coupe transversale montrant le tissu osseux dans la partie médiane d'un rayon Pl. III
- FIG. 26. — Nageoire caudale de *Salmo irideus* Gibb. adulte. Coupe transversale montrant le tissu ostéoïde dans la zone de croissance terminale d'un rayon Pl. III
- FIG. 27. — Nageoire pectorale de *Cyprinus carpio* L. adulte. Coupe transversale montrant le tissu ostéoïde dans la zone de croissance terminale d'un rayon Pl. IV
- FIG. 28. — Nageoire caudale de *Salmo irideus* Gibb. adulte. Coupe transversale montrant du tissu ostéoïde dans la zone de croissance basilaire d'un rayon Pl. IV
- FIG. 29. — Nageoire pectorale de *Cyprinus carpio* L. adulte. Coupe transversale montrant du tissu ostéoïde dans la zone de croissance basilaire d'un rayon Pl. V
- FIG. 30. — Nageoire caudale de *Salmo irideus* Gibb. adulte. Coupe transversale montrant le passage du tissu ostéoïde au tissu osseux par incorporation progressive de cellules Pl. V
- FIG. 31. — Nageoire pectorale de *Cyprinus carpio* L. adulte. Coupe transversale montrant un stade transitoire entre le tissu ostéoïde et le tissu osseux Pl. VI
- FIG. 32. — Nageoire pectorale de *Gobio gobio* (L.) adulte. Coupe transversale montrant l'existence du tissu ostéoïde au début de la régénération Pl. VI
- FIG. 33. — Portion d'un arc branchial d'alevin d'*Esox lucius* L. de 4,5 cm de long. Coupe transversale 42
- FIG. 34. — Structure schématique d'une nageoire de Poisson Téléostéen vue en coupe longitudinale frontale 45
- FIG. 35. — Structure schématique d'une nageoire de Poisson Téléostéen vue en coupe transversale 46
- FIG. 36. — Variation du nombre d'articles composant les rayons médians de la nageoire caudale, avec l'âge, chez *Pygosteus pungitius* (L.) 49
- FIG. 37. — Variation de l'ossification le long des rayons mous et épineux de la nageoire pectorale d'*Ameiurus nebulosus* (Les.) (d'après J. BUSER et M. BLANC, 1949). 50
- FIG. 38. — Diagramme montrant la croissance en longueur d'un article basilaire chez *Cottus bubalis* Euph. (9^e rayon, pectorale gauche) 55
- FIG. 39. — Diagramme montrant la croissance en longueur d'un article basilaire chez *Gobius paganellus* L. (9^e rayon, pectorale droite) .. 56
- FIG. 40. — Diagramme montrant la croissance en longueur d'un article basilaire chez *Blennius pholis* L. (9^e rayon, pectorale droite). 56
- FIG. 41. — Rayons épineux normaux. Partie antérieure de la nageoire anale d'*Eupomotis gibbosus* L. 63
- FIG. 42. — Rayons épineux munis d'actinotriches. Partie antérieure de la nageoire anale de *Crenilabrus melops* (L.) 64
- FIG. 43 et 44. — Deux aspects successifs de la régénération de l'épine de la nageoire pectorale d'*Ameiurus nebulosus* (Les.). Apparition de deux travées symétriques comme dans le cas d'un rayon mou articulé 65
- FIG. 45. — Variations du poids sec (courbe A) et de la teneur en phosphore (courbe B) des différents rayons de la nageoire pectorale d'*Ameiurus nebulosus* (Les.), (d'après J. BUSER et M. BLANC, 1949). 66

FIG. 46 et 47. — Schémas indiquant quelques cas curieux de régénération observés à la suite d'amputation médiane	72
FIG. 48. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez <i>Labrus berggylta</i> Asc., 9 ^e jour après l'amputation....	76
FIG. 49. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez <i>Labrus berggylta</i> Asc., 13 ^e jour après l'amputation....	77
FIG. 50. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez <i>Labrus berggylta</i> Asc., 16 ^e jour après l'amputation..	78
FIG. 51. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez <i>Labrus berggylta</i> Asc., 20 ^e jour après l'amputation..	79
FIG. 52. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez <i>Labrus berggylta</i> Asc., 24 ^e jour après l'amputation....	80
FIG. 53. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez <i>Labrus berggylta</i> Asc. Liaison provisoire entre la membrane basale sous-épidermique et l'extrémité de la travée osseuse encore bien visible	81
FIG. 54. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez <i>Labrus berggylta</i> Asc., 16 ^e jour après l'amputation. Dessin de détail montrant les ostéoblastes et les fibres conjonctives sur la face interne de la travée osseuse.....	82
FIG. 55. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez <i>Labrus berggylta</i> Asc. Exemple de travée osseuse creusée d'anfractuosités	83
FIG. 56. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez <i>Labrus berggylta</i> Asc. Coupe transversale voisine du niveau de l'amputation et montrant à la fois les nouvelles travées osseuses et l'extrémité d'un moignon en plein remaniement....	85
FIG. 57. — Etude histologique de la régénération des nageoires pectorales chez <i>Labrus berggylta</i> Asc. Soudure provisoire de deux travées osseuses successives appartenant à deux rayons différents..	86
FIG. 58. — Apparition du calcium au cours de la régénération dans une nageoire pectorale de <i>Labrus berggylta</i> Asc. adulte (fixation à l'alcool à 95° : réaction de Kossa)	94
FIG. 59. — Structure schématique du sac vitellin d'un embryon de <i>Salmo irideus</i> Gibb	103
FIG. 60. — Partie postérieure d'un embryon de <i>Salmo irideus</i> Gibb., huit jours avant l'éclosion, montrant le niveau des sections effectuées dans les expériences de la série I et de la série II.....	104
FIG. 61, 62, 63. — Transplantation d'ébauche de la nageoire caudale chez l'embryon de <i>Salmo irideus</i> Gibb. Série I. 61. — Ebauche transplantée depuis trois jours. 62. — Ebauche transplantée depuis neuf jours. 63. — Partie de la figure précédente (62) vue à un plus fort grossissement	105
FIG. 64, 65, 66. — Transplantation d'ébauche de la nageoire caudale chez l'embryon de <i>Salmo irideus</i> Gibb. Série II. 64. — Témoin, avant la transplantation. 65. — Ebauche transplantée depuis huit jours. 66. — Ebauche transplantée depuis neuf jours.....	106
FIG. 67. — Embryon de <i>Salmo irideus</i> Gibb. porteur d'un transplant. Imprégnation du transplant et de la nageoire caudale du porteur par le nitrate d'argent	106
FIG. 68. — Embryon de <i>Salmo irideus</i> Gibb., porteur d'un transplant. Imprégnation de celui-ci par le nitrate d'argent	107

FIG. 69. — Nageoire pectorale de <i>Labrus berggylta</i> Asc. Activité destructrice des ostéoblastes dans un rayon amputé de sa partie terminale	119
FIG. 70. — Nageoire pectorale de <i>Labrus berggylta</i> Asc. (fixation à l'alcool à 95° ; réaction de Kossa). Début de régénération ; ostéogénèse très intense	121
FIG. 71. — Nageoire pectorale de <i>Labrus berggylta</i> Asc. (fixation à l'alcool à 95° ; acétate de cobalt-sulfure d'ammonium). Ostéogénèse normale	122
FIG. 72. — Nageoire pectorale de <i>Labrus berggylta</i> Asc. (fixation à l'alcool à 95° ; réaction de Kossa). Ostéogénèse normale.....	123
FIG. 73. — Nageoire pectorale de <i>Labrus berggylta</i> Asc. (fixation à l'alcool à 95° ; réaction de Kossa). Phase de destruction et de remaniements	124
FIG. 74. — Nageoire pectorale de <i>Labrus berggylta</i> Asc (fixation à l'alcool à 95° ; réaction de Kossa). Quelques ostéoblastes de la fig. 70 examinés à l'objectif à immersion.....	125
FIG. 75. — Nageoire pectorale de <i>Labrus berggylta</i> Asc. (fixation à l'alcool à 95° ; réaction de Kossa). Quelques ostéoblastes de la fig. 73 examinés à l'objectif à immersion	126

INTERPRÉTATION DES FIGURES.

a.	= actinotriches.
a.b.	= article basilaire.
a.m.	= articles médians.
a.t.	= article terminal.
b.	= membrane basale sous-épidermique.
c.	= cellules cartilagineuses (ou chondroblastes).
c.b.	= cellules basales de l'épiderme.
c.j.	= cellules conjonctives.
c.l.	= coelome.
c.m.	= cellules du tissu mixte.
c.o.	= cellules osseuses.
c.p.	= cellules du périchondre.
c.s.	= cartilage à stroma capsulaire.
d.	= derme.
e.m.	= extrémité du moignon osseux.
e.n.	= endoderme.
e.p.	= épiderme.
f.j.	= fibres conjonctives.
g.	= globules sanguins.
g.c.	= granulations calcaires.
g.m.	= glandes à mucus.
k.	= capsules des cellules cartilagineuses.
l.j.	= liaison conjonctive entre l'os et la membrane basale.
m.	= muscles striés.
m.o.	= moelle osseuse.
n.	= nerf.
n.c.	= noyaux des cellules cartilagineuses.
o.	= ostéoblastes.
r.e.	= rayons épineux.
r.m.	= rayons mous.
s.	= substance ostéoïde.
s.c.	= substance fondamentale du tissu cartilagineux.
s.m.	= substance fondamentale du tissu mixte.
s.o.	= somatopleure.
s.p.	= splancopleure.
t.	= transplant.
t.c.	= tissu cartilagineux.
t.j.	= tissu conjonctif.
t.m.	= tissu conjonctif médian.
t.o.	= tissu osseux.
v.	= vaisseaux sanguins.
v.t.	= vitellus.
z.c.	= zone calcifiée.
z.p.	= zone préosseuse.

EXPLICATION DES PLANCHES.

PLANCHE I.

FIG. 20. — Filament branchial de *Salmo irideus* Gibb. adulte. Coupe longitudinale.

c. = cellules cartilagineuses ou chondroblastes ; c.o. = cellules osseuses ; k. = capsules des cellules cartilagineuses ; n.c. = noyaux des cellules cartilagineuses ; t.o. = tissu osseux.

FIG. 21. — Filament branchial de *Gasterosteus aculeatus* L. adulte. Coupe longitudinale.

c. = cellules cartilagineuses ou chondroblastes ; n.c. = noyaux des cellules cartilagineuses ; s. = substance ostéoïde.

FIG. 22. — Arc branchial de Civel de 7,6 cm de long. Coupe transversale montrant le tissu ostéoïde.

c. = cellules cartilagineuses ou chondroblastes ; c.j. = cellules conjonctives ; g. = globules sanguins ; n.c. = noyaux des cellules cartilagineuses ; s. = substance ostéoïde ; s.c. = substance fondamentale du tissu cartilagineux ; v. = vaisseaux sanguins.

PLANCHE II.

FIG. 23. — Nageoire pectorale de *Labrus berggylta* Asc. adulte. Coupe transversale montrant le tissu ostéoïde.

e.p. = épiderme ; g.m. = glandes à mucus ; o. = ostéoblastes ; s. = substance ostéoïde ; t.j. = tissu conjonctif.

FIG. 24. — Nageoire caudale de *Salmo irideus* Gibb. adulte. Coupe transversale montrant le tissu osseux dans la partie médiane d'un rayon.

e.p. = épiderme ; c.o. = cellules osseuses ; o. = ostéoblastes ; t.j. = tissu conjonctif ; t.o. = tissu osseux ; v. = vaisseaux sanguins.

PLANCHE III.

FIG. 25. — Nageoire pectorale de *Cyprinus carpio* L. adulte. Coupe transversale montrant le tissu osseux dans la partie médiane d'un rayon.

c.o. = cellules osseuses ; e.p. = épiderme ; t.j. = tissu conjonctif ; t.o. = tissu osseux ; v. = vaisseaux sanguins.

FIG. 26. — Nageoire caudale de *Salmo irideus* Gibb. adulte. Coupe transversale montrant le tissu ostéoïde dans la zone de croissance terminale d'un rayon.

e.p. = épiderme ; o. = ostéoblastes ; s. = substance ostéoïde ; t.j. = tissu conjonctif.

PLANCHE IV.

FIG. 27. — Nageoire pectorale de *Cyprinus carpio* L. adulte. Coupe transversale montrant le tissu ostéoïde dans la zone de croissance terminale d'un rayon.

e.p. = épiderme ; o. = ostéoblastes ; s. = substance ostéoïde ; t.j. = tissu conjonctif.

FIG. 28. — Nageoire caudale de *Salmo irideus* Gibb. adulte. Coupe transversale montrant du tissu ostéoïde dans la zone de croissance basilaire d'un rayon.

m. = muscles striés ; s. = substance ostéoïde ; t.j. = tissu conjonctif.

PLANCHE V.

FIG. 29. — Nageoire pectorale de *Cyprinus carpio* L. adulte. Coupe transversale montrant du tissu ostéoïde dans la zone de croissance basilaire d'un rayon.

e.p. = épiderme ; g.m. = glandes à mucus ; o. = ostéoblastes ; s. = substance ostéoïde ; t.j. = tissu conjonctif ; v. = vaisseaux sanguins.

FIG. 30. — Nageoire caudale de *Salmo irideus* Gibb. adulte. Coupe transversale montrant le passage du tissu ostéoïde au tissu osseux par incorporation progressive de cellules.

c.o. = cellule osseuse ; e.p. = épiderme ; o. = ostéoblastes ; t.j. = tissu conjonctif ; t.o. = tissu osseux.

PLANCHE VI.

FIG. 31. — Nageoire pectorale de *Cyprinus carpio* L. adulte. Coupe transversale montrant un stade transitoire entre le tissu ostéoïde et le tissu osseux.

c.o. = cellule osseuse ; e.p. = épiderme ; t.j. = tissu conjonctif ; t.o. = tissu osseux.

FIG. 32. — Nageoire pectorale de *Gobio gobio* (L.) adulte. Coupe transversale montrant l'existence du tissu ostéoïde au début de la régénération.

e.p. = épiderme ; o. = ostéoblastes ; s. = substance ostéoïde ; t.j. = tissu conjonctif.

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages
Sommaire	1
Chapitre I : Généralités	5
Chapitre II : Principales différences avec les Vertébrés Supérieurs..	12
Chapitre III : Rapports entre le cartilage et l'os. Quelques exemples d'ossification chez les Téléostéens.....	14
Chapitre IV : Le tissu ostéoïde	34
Complément : Etude du mode de croissance des lépidotriches articulés	44
Chapitre V : L'ostéogénèse réparatrice. Expérimentation sur les na- geoirs	59
Chapitre VI : Influence du système nerveux sur l'ostéogénèse.....	101
Chapitre VII : Blocage de l'ossification en hiver chez les Poissons Té- léostéens	108
Chapitre VIII : Etude détaillée des ostéoblastes.....	115
Chapitre IX : Conclusions générales	128
Bibliographie	130
Liste des tableaux incorporés au texte.....	137
Liste des figures	138
Explication des planches	143
Table des matières	145

DEUXIÈME THÈSE.

Propositions données par la Faculté :

La répartition des poissons d'eau douce africains

Vu et approuvé :

Paris, le 28 avril 1953.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

A. CHATELET.

Vu

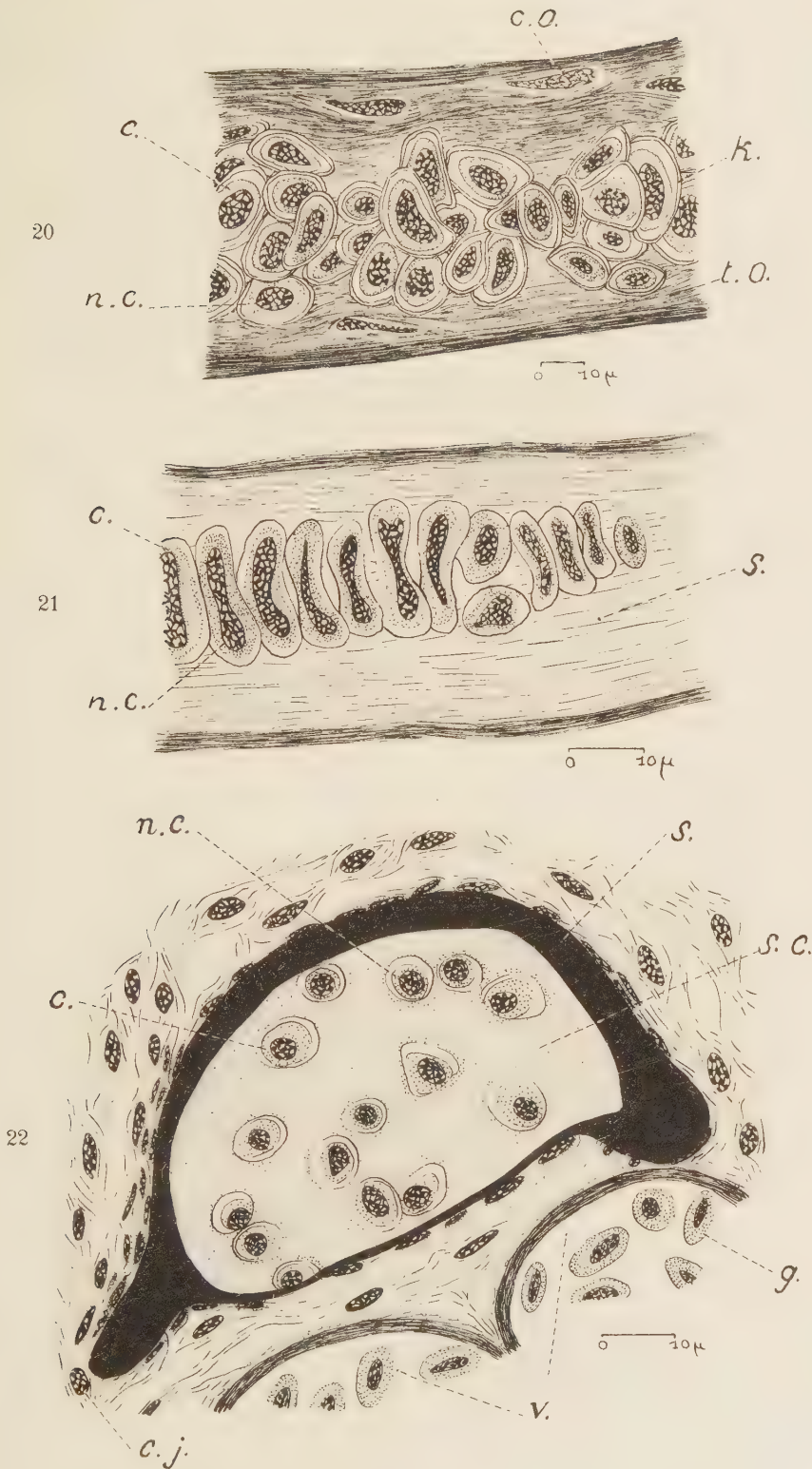
et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

JEAN SARRAILH.

Achevé d'imprimer le 30 décembre 1953.

Imprimerie Maurice DECLUME, Lons-le-Saunier. — 979-53-310.
Décembre 1953. « Dépôt légal 4^e trimestre 1953. N° 4228 ».



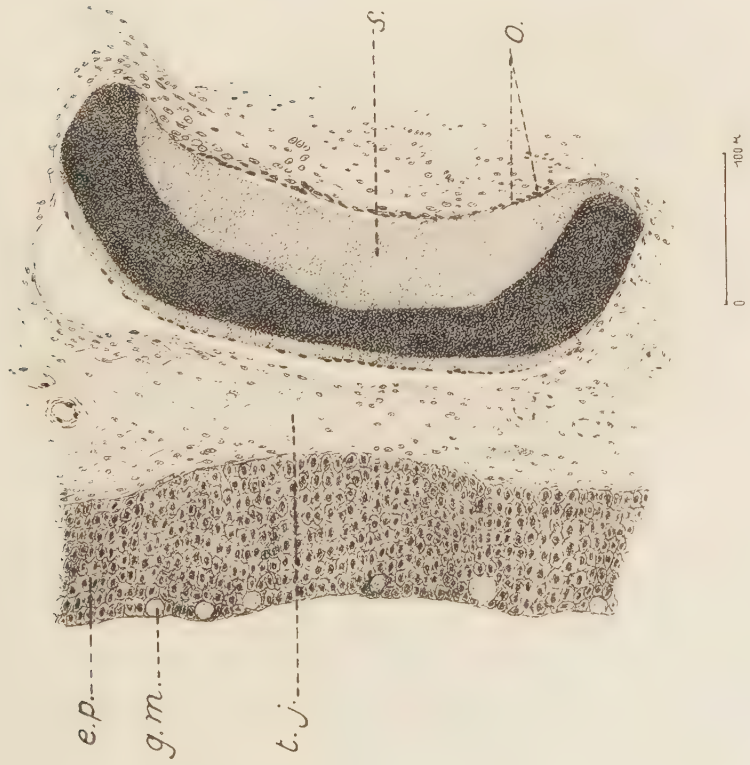
A. Barry imp.

I. Borderieux del.



A. Faucheur del.

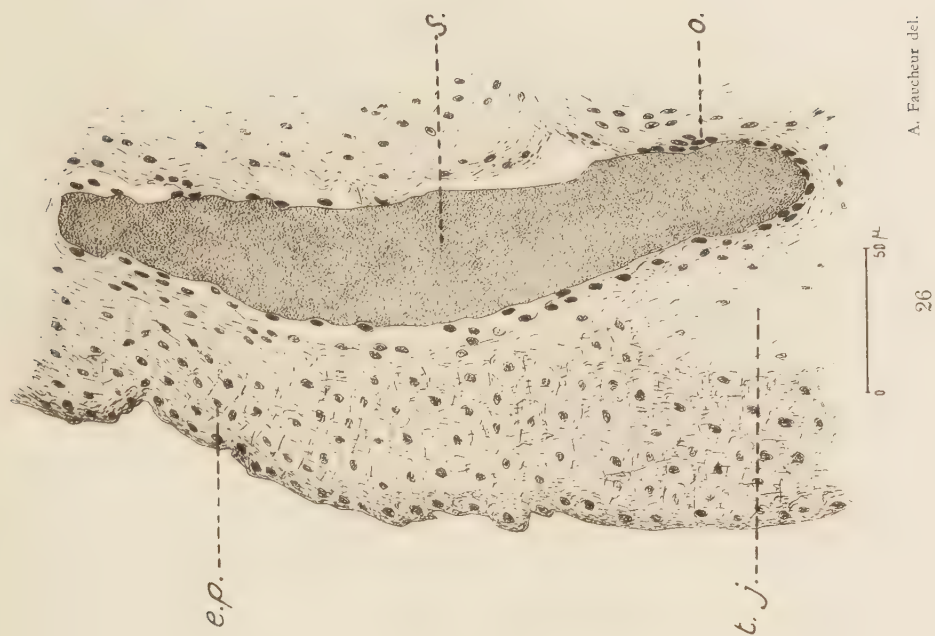
24



A. Barry imp.

23

OSTÉOGENÈSE CHEZ LES POISSONS TÉLÉOSTÉENS.



OSTÉOGENÈSE CHEZ LES POISSONS TÉLÉOSTÉENS.

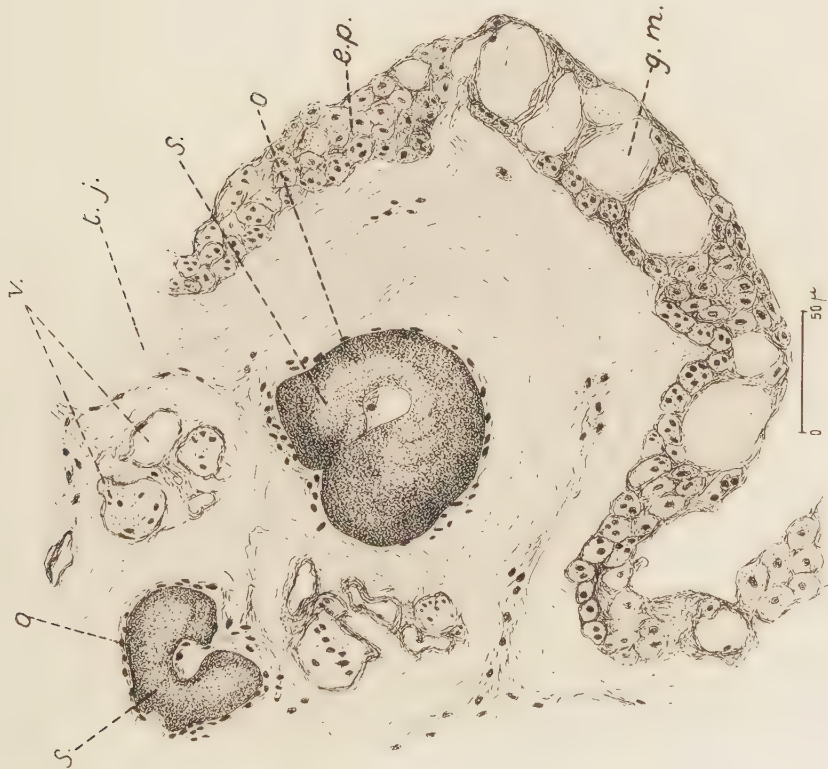


OSTÉOGENÈSE CHEZ LES POISSONS TÉLÉOSTÉENS.



A. Faucheur del.

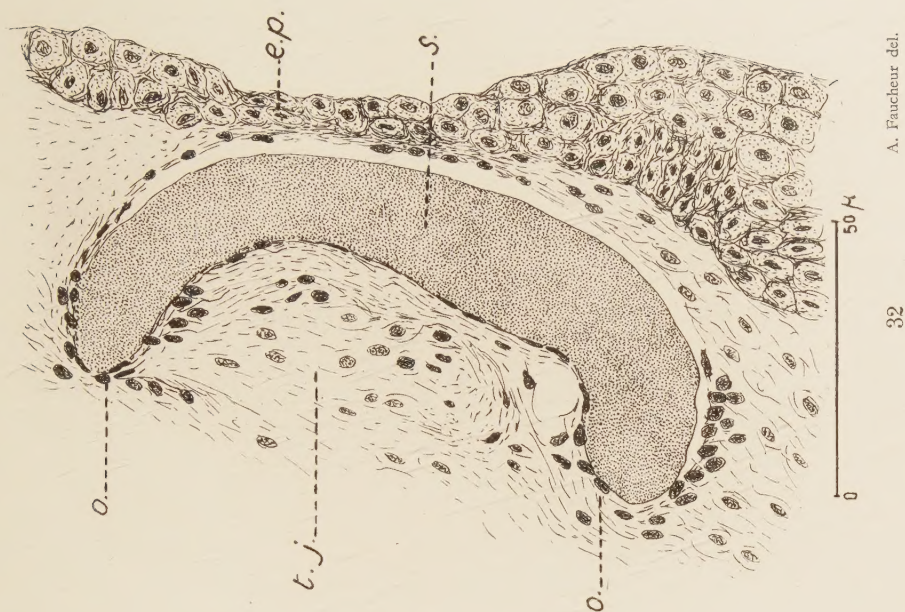
30



A. Barry imp.

29

OSTÉOGENÈSE CHEZ LES POISSONS TÉLÉOSTÉENS.



A. Faucheur del.

32



A. Barry imp.

31

OSTÉOGENÈSE CHEZ LES POISSONS TÉLÉOSTÉENS.

